

---

# **MASTERARBEIT**

---

Frau  
**B.Sc. Anett Marciniak**

**Forensische Mykologie –  
Leichenbesiedlung durch Pilze**

Mittweida, 2015

Fakultät  
Mathematik/Naturwissenschaften/Informatik

---

# **MASTERARBEIT**

---

## **Forensische Mykologie – Leichenbesiedlung durch Pilze**

Autor:  
**Frau  
B.Sc. Anett Marciniak**

Studiengang:  
**Molekularbiologie/Bioinformatik**

Seminargruppe:  
**M013w1-M**

Erstprüfer:  
**Prof. Dr. rer. nat. Dirk Labudde**

Zweitprüfer:  
**M.Sc. Marleen Kreuzer**

Einreichung:  
**Mittweida, 25.08.2015**

Verteidigung/Bewertung:  
**Mittweida, 2015**

Faculty  
Mathematik/Naturwissenschaften/Informatik

## **MASTERTHESIS**

### **Forensic Mycology - body colonization by fungi**

author:

**Ms**

**B.Sc. Anett Marciniak**

course of studies:

**Molecular Biology/ Bioinformatics**

seminar group:

**M013w1-M**

first examiner:

**Prof. Dr. rer. nat. Dirk Labudde**

second examiner:

**M. Sc. Marleen Kreuzer**

submission:

**Mittweida, 25/08/2015**

defence/ evaluation:

**Mittweida, 2015**

## **Bibliografische Beschreibung:**

Marciniak, Anett:

Forensische Mykologie – Leichenbesiedlung durch Pilze. - 2015.

Inhaltsverzeichnis I-II; Abbildungsverzeichnis III-V; Tabellenverzeichnis VI-VII;

Anhang 77-82

Mittweida, Hochschule Mittweida, Fakultät

Mathematik/Naturwissenschaften/Informatik, Masterarbeit, 2015

## **Referat:**

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden Informationen über Pilze, vor allem über leichenbesiedelnde Schimmelpilzarten, zusammengetragen. Es wurde eine Methode zur Differenzierung von Schimmelpilzen anhand makroskopischer und mikroskopischer Merkmale aufgezeigt. In praktischen Versuchen wurde mithilfe von Tiermodellen (Einsatz von Schweinefleisch als Ersatz für menschliches Gewebe) die Besiedlung von Kadavern untersucht. In diesen Versuchen wurde das Fleisch unterschiedlichen Witterungsbedingungen (Temperatur und Luftfeuchtigkeit) ausgesetzt. Im ersten Versuch (auf einem Dach bei Sonnenschein) trocknete das Fleisch aus und eine Besiedlung durch Schimmelpilze blieb aus. In dem zweiten Versuch (im Keller bei hoher Luftfeuchtigkeit) siedelten sich Schimmelpilze auf dem Fleisch an. Von den entstandenen Kolonien wurden Proben genommen, mikroskopisch untersucht und nach einem zuvor gefundenen Bestimmungsschlüssel differenziert. Am Ende der Arbeit erfolgte eine Ableitung von Zielen für künftige Arbeiten.

## **Danksagung**

Ich möchte mich an dieser Stelle bei Herrn Prof. Dr. rer. nat. Dirk Labudde bedanken für die Bereitstellung des Themas und die Betreuung während der Anfertigung der vorliegenden Arbeit.

Gleichzeitig danke ich allen Mitgliedern der Forschungsgruppen FoSIL und bigM, die mir in Gesprächen Tipps für meine Versuche gegeben haben.

Ganz besonderer Dank an Tommy für seine Unterstützung während des Versuchs auf dem Dach.

Und danke, liebe Mutti, für das Korrekturlesen.

Wenn irgendwo Pilze schmoren, wird der Kriminalist unwillkürlich hellhörig.

Agatha Christie (1890-1976)

## **Inhaltsverzeichnis**

1	Einleitung	1
1.1	Pilze und Schimmelpilze	3
1.1.1	Systematik, Phylogenie und Morphologie	7
1.1.1.1	Systematik und Phylogenie	7
1.1.1.2	Vegetatives Hyphenwachstum	9
1.1.1.3	Sporenbildung	10
1.1.2	Physiologie	11
1.1.2.1	Vorkommen und Verbreitung	11
1.1.2.2	Wachstumsbedingungen	12
1.1.2.3	Lebenszyklus der Ascomyceten	15
1.1.2.4	Lebenszyklus der Zygomyceten	16
1.1.2.5	Lebenszyklus der Deuteromyceten	18
1.1.3	Schadwirkung und Bekämpfung	18
1.1.4	Anwendungen	21
1.1.4.1	Biotechnologie	22
1.1.4.2	Lebensmitteltechnologie	25
1.2	Forensische Mykologie	26
1.2.1	Allgemeines	26
1.2.2	Prozesse nach dem Tod	31
1.2.2.1	Leichenstadien	31
1.2.2.2	Leichenliegezeitbestimmung	36
2	Entomologie und Mykologie – Parallelen und Unterschiede	41
3	Material und Methoden	46
3.1	Geräte	46
3.2	Tiermodell	47
3.3	Kultivierungsversuche	48
3.4	Mikroskopie	50

3.4.1	Herstellung der mikroskopischen Präparate	50
3.4.2	Mikroskopische Differenzierung	51
3.4.2.1	Aspergillus	52
3.4.2.2	Penicillium	53
3.4.2.3	Candida	54
3.4.2.4	Acremonium	55
3.4.2.5	Fusarium	56
3.4.2.6	Mucor	57
4	Ergebnisse	59
4.1	Experiment 1	59
4.2	Experiment 2	63
4.3	Mikroskopie	67
5	Ausblick	72
6	Zusammenfassung	74
7	Summary	75
8	Anhang	76
8.1	Beispiele monofaktorieller ökologischer Gruppen von Pilzen, die bestimmte Lebensbedingungen beanspruchen	76
8.2	Wichtige Gruppen der Pilze	77
8.3	Zusammensetzung und Herstellung der Nährmedien	78
8.3.1	Malz-Agar 2,5 % (MEA)	78
8.3.2	Maismehl-Agar (CMA)	79
8.3.3	Czapek-Dox-Agar (CzA)	80
8.4	CD	81
9	Literaturverzeichnis	XIV



## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Phylogenetischer Baum des Lebens	3
Abbildung 2: Tierische Zelle	4
Abbildung 3: Pilzzelle	4
Abbildung 4: Pflanzliche Zelle	4
Abbildung 5: Phylogenetische Einordnung der Pilze	7
Abbildung 6: Schematische Darstellung verschiedener Hyphen	10
Abbildung 7: Periodizität bei der Sporenbildung hervorgerufen durch Hell- und Dunkelphasen bei <i>Aspergillus niger</i>	15
Abbildung 8: Lebenszyklus der Ascomyceten	16
Abbildung 9: Lebenszyklus der Zygomyceten am Beispiel von <i>Rhizopus stolonifer</i>	17
Abbildung 10: Schematische Darstellung eines parasexuellen Zyklus am Beispiel von <i>Penicillium chrysogenum</i>	18
Abbildung 11: Schimmelbefall auf einer Zitrone	21
Abbildung 12: Schimmelbefall auf einer Raumdecke	21
Abbildung 13: Exhumierter mumifizierter Leichnam mit flächenhafter weißer Schimmelpilzbesiedlung der Gesichtshaut, nach sieben Monaten in einem Erdgrab	35
Abbildung 14: Aussehen von <i>Hebeloma vinosophyllum</i>	43
Abbildung 15: Leichnam eines 71-jährigen Mannes, der mit weißen Pilzkolonien besiedelt ist	44
Abbildung 16: Verwendetes digitales Lichtmikroskop	46
Abbildung 17: Versuchsaufbau des ersten Versuchs	48
Abbildung 18: Versuchsaufbau des zweiten Versuchs	50
Abbildung 19: Übersicht über Differenzierungsmerkmale ausgewählter Schimmelpilzgattungen	51
Abbildung 20: Schematischer Aufbau der Gattung <i>Aspergillus</i>	53
Abbildung 21: Lichtmikroskopische Aufnahme von <i>Aspergillus niger</i>	53
Abbildung 22: Schematischer Aufbau der Gattung <i>Penicillium</i>	54

Abbildung 23: Lichtmikroskopische Aufnahme von <i>Penicillium sp.</i>	54
Abbildung 24: Schematische Abbildung der Gattung <i>Candida</i>	55
Abbildung 25: Lichtmikroskopische Aufnahme von <i>Candida albicans</i>	55
Abbildung 26: Schematische Darstellung der Gattung <i>Acremonium</i>	56
Abbildung 27: Lichtmikroskopische Aufnahme von <i>Acremonium murorum</i>	56
Abbildung 28: Schematische Darstellung der Gattung <i>Fusarium</i>	57
Abbildung 29: Lichtmikroskopische Aufnahme von <i>Fusarium culmorum</i>	57
Abbildung 30: Schematische Darstellung der Gattung <i>Mucor</i>	58
Abbildung 31: Lichtmikroskopische Aufnahme von <i>Mucor sp.</i>	58
Abbildung 32: Versuch 1, Versuchsstart	60
Abbildung 33: Versuch 1, Tag 3	60
Abbildung 34: Versuch 1, Tag 6	60
Abbildung 35: Versuch 1, Tag 8	61
Abbildung 36: Versuch 1, Tag 9	61
Abbildung 37: Versuch 1, Tag 12	61
Abbildung 38: Versuch 1, Tag 13	62
Abbildung 39: Versuch 1, Tag 16	62
Abbildung 40: Versuch 1 nach Abbruch des Experiments (Tag 22)	62
Abbildung 41: Versuch 2, Versuchsstart	64
Abbildung 42: Versuch 2, Tag 3	64
Abbildung 43: Versuch 2, Tag 5	65
Abbildung 44: Versuch 2, Tag 7	65
Abbildung 45: Versuch 2, Tag 9	65
Abbildung 46: Versuch 2, Tag 11	66
Abbildung 47: Versuch 2, Tag 14	66
Abbildung 48: Versuch 2, Tag 17	66
Abbildung 49: Erste Probenahme von Versuch 2 (an Tag 17 des Versuchs)	68
Abbildung 50: Zweite Probenahme von Versuch 2 (an Tag 17 des Versuchs)	69

Abbildung 51: Dritte Probenahme von Versuch 2 (an Tag 17 des Versuchs)	70
Abbildung 52: Übersicht der durch Sidrim et al. gefundenen Pilzgattungen	71

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Vergleich von Tier-, Pilz- und Pflanzenzellen anhand ausgewählter Kriterien	4
Tabelle 2: Ausgewählte Schimmelpilze und ihre minimalen, optimalen und maximalen Temperaturen, bei denen ein Myzelwachstum zu beobachten ist	12
Tabelle 3: Minimumwerte der Wasseraktivität ( $A_w$ – Wert) für die Entwicklung von einigen häufigen Schimmelpilzen	14
Tabelle 4: Ausgewählte Schimmelpilze und die pH-Werte, bei denen ein Myzelwachstum beobachtet werden kann	14
Tabelle 5: Übersicht ausgewählter Mykotoxine, deren Wirkung auf den Menschen und der Hauptproduzenten	20
Tabelle 6: Organische Säuren mit (potentiellem) Nutzen für die Lebensmittelindustrie, die durch Schimmelpilze produziert werden	23
Tabelle 7: Auswahl an Vitaminen, die mit Schimmelpilzen produziert werden	24
Tabelle 8: Auflistung bekannter Lebensmittel, an deren Herstellung Schimmelpilze beteiligt sind	25
Tabelle 9: Pilzarten, isoliert von Haaren, Haut, Schleimhaut und Lungen im gasgeblähten Stadium, Stadium der Fäulnis und skelettierten Stadium	29
Tabelle 10: Pilzarten, isoliert von der Umgebung des Leichnams (Knochen, Kleidung, Erdboden, Särge) im gasgeblähten Stadium, Stadium der Fäulnis und skelettierten Stadium	30
Tabelle 11: Kriterien für die rechtsmedizinische Beurteilung des postmortalen Intervalls; die Angabe der Zeit erfolgt in Stunden post mortem (hpm) bei durchschnittlichen, mitteleuropäischen Umgebungsbedingungen	36
Tabelle 12: Abfolge adulter Arthropoden auf menschlichen Leichen während der verschiedenen Fäulnisstadien	40
Tabelle 13: Niedrigste Temperaturen, bei denen die Larven ausgewählter Fliegenarten überlebensfähig sind	42
Tabelle 14: Äußere Bedingungen während des ersten Versuchs	59

Tabelle 15: Äußere Bedingungen während des zweiten Versuchs	63
Tabelle 16: Einteilung der Schimmelpilze nach den Feuchtigkeitsansprüchen	76
Tabelle 17: Einteilung der Pilze nach ihren Temperaturansprüchen	76
Tabelle 18: Einteilung der Pilze nach ihren Ansprüchen an die Azidität	76
Tabelle 19: Übersicht über einige wichtige Gruppen der Pilze (Fungi oder Mycota)	77

## Abkürzungen

Aqua dest.	Aqua destillata (destilliertes Wasser)
ATP	Adenosintriphosphat
$A_w$	Wasseraktivität
$\text{CaCO}_3$	Kalziumkarbonat
CMA	Maismehl-Agar (Corn Meal Agar)
CEMM	Medical Mycology Center (Universität in Ceará, Brasilien)
CzA	Czapek-Agar
DNA	Desoxyribonukleinsäure (deoxyribonucleic acid)
$\text{FeSO}_4$	Eisensulfat
HCl	Chlorwasserstoff (Salzsäure)
hpm	Stunden post mortem (hours post mortem)
HPLC	Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (high-performance liquid chromatography)
KCL	Kaliumchlorid
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	Dikaliumhydrogenphosphat
LSD	Lysergsäurediethylamid
MEA	Malzextrakt-Agar
$\text{MgSO}_4$	Magnesiumsulfat
$\text{NaNO}_3$	Natriumnitrat
PBI	postburiales Intervall
PMI	postmortales Intervall
RFLP	Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus
$\text{SO}_2$	Schwefeldioxid
sp.	eine nicht näher bezeichnete Spezies

spp.                    alle Mitglieder einer Gattung

TLC                    Dünnschicht-Chromatographie (thin layer chromatography)

## Begriffserklärungen

Akromegalie	endokrinologische Erkrankung (Überproduktion des Wachstumshormons Somatotropin)
amöboid	Amöben-ähnlich, mit wechselnder Form
Anamorphe	(asexuelles) Entwicklungsstadium, das keine Meiosporenbildung aufweist
Anastomose	sekundäre Verbindungen zwischen Hyphen
Antheridium	männliches Gametangium
antibiotisch	gegen Mikroorganismen wirkend
apikal	an der Spitze gelegen
Arthropode	Gliederfüßer
Ascogone	weibliches Gametangium
ATP-Synthese	chemische Reaktionen zum Aufbau von ATP als universellen Energieträger
carnivor	fleischfressend
Chlamydosporen	Mitosporen mit einer inneren sekundären Wand und eingelagertem hydrophoben Material
Crossing-over	Mechanismus, bei dem ein Austausch von genetischen Informationen zwischen zwei homologen Chromosomen stattfindet
dermatotoxisch	hautschädigend
diploid	doppelter Chromosomensatz
endogene Sporen	Sporen, die in einem Sporenbehälter gebildet werden



Ergotismus	Vergiftung durch Mutterkornalkaloide, neben Erbrechen, Verwirrtheit, Kopfschmerzen, Diarrhö und Wahrnehmungsstörungen an den Gliedmaßen bis zu Durchblutungsstörungen von Herz, Nieren und Extremitäten
eukaryotisch	Vorhandensein eines echten Zellkerns
euryazid	Auftreten in einem weiten pH-Bereich
exogene Sporen	Sporen, die von einer Hyphe abgeschnürt werden
Fungistasis	Effekt der Hemmung bestimmter Entwicklungsphasen von Pilzen
Gametangien	zelluläre Hülle, in der Gameten entstehen
Gameten	zur Zellverschmelzung befähigte Zellen
hämorrhagisch	zu Blutungen führend
haploid	einfacher Chromosomensatz
Haploidisierung	Herabregulierung diploider Kerne zu haploiden durch z.B. Chromosomenverlust
hepatotoxisch	leberschädigend
Heterokaryon	Zelle mit unterschiedlichen, nicht verschmolzenen Zellkernen
hyalin	farblos, durchscheinend, glasig
Hyperprolaktinämie	Erhöhung des Prolaktinspiegels im Blut
Hyphe	Pilzfaden - bildet die Grundstruktur des Pilzmyzels und der Fruchtkörper
immunotoxisch	immunsystemschrädigend
Intermediate	Zwischenprodukt, welches im Verlauf einer mehrstufigen Reaktion entsteht
kanzerogen	krebserzeugend
Karyogamie	Kernphasenwechsel

LSD	Lysergsäurediethylamid ( $C_{20}H_{25}N_3O$ ); starkes Halluzinogen, das heute noch als Droge konsumiert wird
Meiose	Reduktionsteilung – diploider Chromosomensatz wird während der Kernteilungen zu haploiden Chromosomensatz reduziert
mesophil	Bevorzugung von mittleren, nicht extremen Umweltbedingungen
Mitose	Kernteilung mit äquivalenter Verteilung der genetischen Informationen auf die Tochterkerne
monophyletisch	Bezeichnung für ein Taxon, das sämtliche Nachkommen einer Stammart umfasst
mutagen	erbgutschädigend
Mykose	durch Pilze hervorgerufene Infektionskrankheiten
Mykotoxikose	durch Mykotoxin ausgelöste Vergiftung
Mycotoxine	giftige Substanzen, die sowohl von den Großpilzen als auch von den niederen Pilzen gebildet werden können
Myzel	Gesamtheit des Hyphengeflechts eines Pilzes
nephrotoxisch	nierenschädigend
neurotoxisch	nervenzellschädigend
Palynologie	Wissenschaft der Sporenanalyse
Parkinsonismus	Auftreten von nicht durch Morbus Parkinson ausgelöster parkinsonartiger Symptomatik
Peroxisom	auch: Microbody; essentielle Organelle eukaryotischer Zellen, die verschiedene zelluläre Metabolite abbaut
Pheromon	Duftstoff, der von einem Lebewesen abgegeben und bei einem anderen Lebewesen derselben Art eine spezifische Wirkung erzielt
polyenergid	mehrkernig

postburiales Intervalls (PBI)	Zeitraum vom Begräbnis bis zum Auffinden eines Leichnams
postmortales Intervall (PMI)	Zeitraum zwischen einem tödlichen Ereignis und dem Auffinden eines Leichnams
Pseudopodien	veränderliche Zellfortsätze, die eine aktive Fortbewegung ermöglichen
psychrophil	kälteliebend
Saprobiont	Fäulnisbewohner, der seine Nährstoffe aus pflanzlichen oder tierischen Überresten bezieht
saprotroph	Ernährung durch Abbau organischer Verbindungen totem Materials
Sclerotium	verhärteter Überdauerungskörper pilzlicher Organismen
Septen	Scheidewände in Hyphen, die diese in einzelne Kompartimente unterteilt
Sporangium	zelluläre Hülle, in der Sporen entstehen
Sporulation	Prozess der Sporenbildung
Synzytium	mehrkernige Zelleinheit
Teleomorphe	(sexuelles) Entwicklungsstadium, das eine Meiosporenbildung aufweist
teratogen	fruchtschädigend
Trichogyne	haarförmige Ausstülpung eines Ascogons, die der Aufnahme männlicher Kerne dient
ubiquitär	überall verbreitet
Uterusatonie	verminderte Kontraktion der Uterusmuskulatur nach Plazentaausstoßung
vasokonstriktiv	Auslösen einer Gefäßverengung (Vasokonstriktion)
zytotoxisch	zellschädigend/zelltötend

# 1 Einleitung

Das bislang größte bekannte Lebewesen der Welt ist mit einer Fläche von 890 Hektar (entspricht 8,9 km<sup>2</sup>) und einem geschätzten Gewicht von 150 Tonnen ein Pilz! Es handelt sich dabei um den etwa 2400 Jahre alten dunklen Hallimasch *Armillaria ostoyae*, der im Malheur National Forest in Oregon, USA, entdeckt wurde.[54]

Menschen haben unterschiedliche Beziehungen zu Pilzen. Viele achten sie als Speisepilze, die vor allem zur Herbstzeit als kulinarische Leckerbissen unsere Küche bereichern. Andere wiederum verachten sie wegen ihrer Giftigkeit oder auch einfach nur aus Ekel, wenn sich mal wieder ein Schimmelpilz auf einem Lebensmittel angesiedelt hat.

Die Geschichte der Mykologie kann sehr weit zurückverfolgt werden. Die erstmalige schriftliche Erwähnung erfolgte ca. 450 v. Chr. durch den griechischen Dichter Euripides. Alte Tontafeln mit Zaubersprüchen als Gegenmittel gegen Pilzerkrankungen an Kulturpflanzen jedoch beweisen, dass sich schon die alten Ägypter ca. 3500 v. Chr. damit beschäftigten. 1000 v. Chr. dienten in Mittelamerika Pilze mit halluzinogenen Inhaltsstoffen kultischen Zwecken.[56] Aus dem Mittelalter sind die Pilzbücher der deutschen Äbtissin Hildegard von Bingen (1098–1179) überliefert. Zu diesem Zeitpunkt wurden Pilze in zwei Kategorien eingeteilt: in genießbare und giftige Pilze. In einem seiner mittelalterlichen Kräuterbücher beschreibt der deutsche Naturforscher Adam Lonitzer (1528 – 1568) Pilze wie folgt: „Seind weder Kräuter noch Wurzeln, weder Blumen noch Samen, sondern nichts anders dann ein oberflüssige feuchtigkeit des Erdtrichs, der Bäume, der Hölzer und fauler ding, darumb sie auch eine kleine zeit wären, dann in sibentagen wachsen sie, unnd vergehen auch, sonderlich aber kriechen sie herfür wann es dondert.“[85] In diesem Kräuterbuch findet sich auch eine erste Darstellung von *Claviceps-Sklerotien* (Mutterkorn).

Schon im 16. Jahrhundert wurden Pilze als Heilmittel eingesetzt. Die Sklerotien des Pilzes *Claviceps pupurea*, die wie übergroße, dunkle Körner an Roggenpflanzen aussehen, wurden während der Geburt zur Uteruskontraktion und Auslösung der Nachgeburt eingesetzt. Daher stammt auch der Name „Mutterkorn“.[60] Mutterkorn wurde Mitte des 20. Jahrhunderts noch einmal auf andere Weise interessant. 1938 suchte der Schweizer Wissenschaftler Albert Hofmann nach einem Kreislaufmittel. Dazu modifizierte er verschiedene Amid-Derivate der Lysergsäure, darunter das Diethylamid LSD-25. LSD wurde später eine der beliebtesten Partydrogen.

Andere Pilzarten wie z.B. der Göttliche Dungpilz (*Psilocybe cubensis*) werden auch als „magic mushrooms“ bezeichnet. Sie enthalten Psilocin und Psilocybin, die beim Menschen nach 20 bis 30 Minuten einen tranceartigen Zustand mit Verlust des Raum- und Zeitgefühls, Halluzinationen bzw. Desorientiertheit und Panikattacken verursachen. Deshalb fallen diese Pilze unter das Betäubungsmittelgesetz.

Auch der bei uns beheimatete Fliegenpilz (*Amanita muscaria*) enthält toxisch wirkende Substanzen. Für die berauschende Wirkung sind die Ibotensäure und das Muscimol verantwortlich. Nur ca. 180 der etwa 6000 Pilzarten in Europa gelten als giftig oder giftverdächtig.[60] Der für den Menschen gefährlichste Pilz ist der Grüne Knollenblätterpilz (*Amanita phalloides*), der extrem giftige Amatoxine enthält, die schon nach dem Verzehr von 5 – 7 mg (das entspricht der Menge in einem bis zwei Pilzen) beim Menschen zum Tod führen kann. Als eins der wohl berühmtesten Opfer des Grünen Knollenblätterpilzes gilt der römische Kaiser Claudius (reg. 41 - 54).

Die moderne Mykologie beginnt mit den Forschungen von Christian Hendrik Persoon (1761–1836), der in seiner „Synopsis methodica fungorum“ (1801) ein Pilzsystem erarbeitete, das selbst mikroskopisch kleine Pilze enthielt. Wenig später veröffentlichte der Schwede Elias Magnus Fries sein dreibändiges Werk „Systema mycologicum“, in dem er eine systematische Ordnung der höheren Pilze veröffentlichte.[56]

Trotz der Erkenntnisse aus vergangenen Jahrhunderten und der Forschungen in der Mykologie bis heute gilt das Reich der Pilze noch als relativ unerforscht. Von den geschätzt 1,5 Millionen verschiedenen Pilzarten sind erst ca. 100.000 bekannt. Diese Lebewesen gewinnen zunehmend an Bedeutung in verschiedenen Zweigen der Wissenschaft und Wirtschaft. Sie dienen zur Produktion und Veredlung von Lebensmitteln (z.B. Blauschimmel bei Käse), als wichtige Ausgangsstoffe in der Herstellung von Medizin (z.B. zur Herstellung von Antibiotika) und auch für Forensiker werden Pilze immer interessanter (z.B. die Gattung *Hebeloma*, die Grabstellen markieren können).

In der vorliegenden Arbeit geht es hauptsächlich um Schimmelpilze, da diese in der Lage sind, Leichen zu besiedeln, deren Vorkommen und die Anwendungsgebiete. Es soll herausgefunden werden welche Schimmelpilzarten auf Leichnamen wachsen und wie sie sich entwickeln. Für eine Identifikation der Schimmelpilze werden mikroskopische Bestimmungsmerkmale erläutert und in praktischen Versuchen angewendet.

## 1.1 Pilze und Schimmelpilze

Die Organisation des Lebens ist sehr komplex. Daher gab es bei dem Versuch des Menschen, ein Klassifikationssystem dafür einzuführen, immer wieder Veränderungen der Systeme. Zeitweise wurden die Lebewesen in zwei Gruppen unterteilt, in Prokaryoten und Eukaryoten. 1990 erweiterten Woese, Kandler und Wheelis diese Einteilung. Nach dieser systematischen Einteilung werden die Lebewesen in drei Domänen eingeteilt: Bacteria, Archaea und Eucarya (siehe Abbildung 1).[82] Innerhalb der Domäne Eucarya gibt es zehn verschiedene Reiche, wozu beispielsweise Animalia (Tiere), Plantaea (Pflanzen) und auch Fungi (Pilze) zählen. Schätzungen zufolge gibt es 1,5 Millionen verschiedene Arten von Pilzen. Davon sind jedoch bisher nur etwa 100.000 Arten beschrieben.[41]

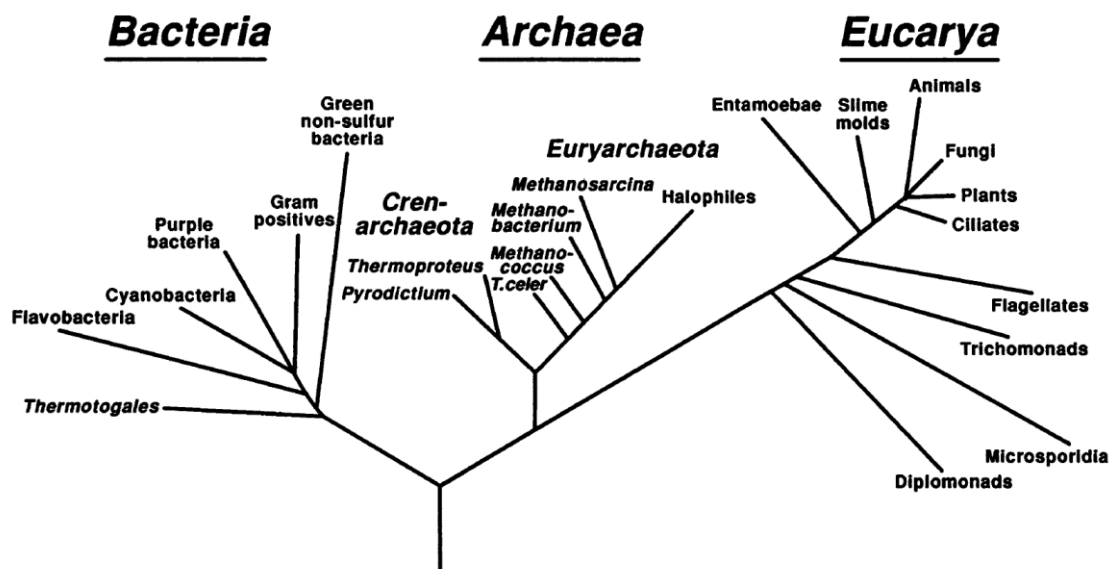
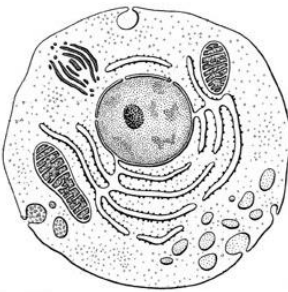
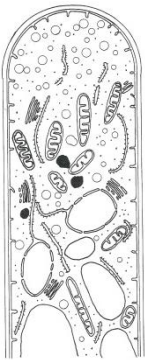
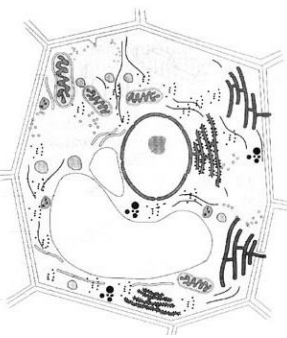


Abbildung 1: Phylogenetischer Baum des Lebens [82]

Da Pilze, Pflanzen und Tiere verschiedenen Reichen angehören, ist ihr zellulärer Aufbau ebenfalls unterschiedlich. Ähnlich den tierischen Zellen besitzen Pilze einen Zellkern und membranumschlossene Organellen wie Mitochondrien oder Peroxisomen. Zudem haben die Zellen der Pilze (wie Pflanzenzellen auch) meist eine Zellwand sowie eine oder mehrere Vakuolen. Sie unterscheiden sich jedoch deutlich von den Pflanzen, da sie keine Energie aus der Photosynthese gewinnen können. Ein Überblick über die eben genannten Parallelen und Unterschiede sowie weitere Merkmale sind in Tabelle 1 aufgeführt.

**Tabelle 1: Vergleich von Tier-, Pilz- und Pflanzenzellen anhand ausgewählter Kriterien**

	<b>Tiere</b>	<b>Pilze</b>	<b>Pflanzen</b>
	 <p><b>Abbildung 2: Tierische Zelle [60]</b></p>	 <p><b>Abbildung 3: Pilzzelle [55]</b></p>	 <p><b>Abbildung 4: Pflanzliche Zelle [65]</b></p>
Zellkern	vorhanden (Ausnahme: Erythrozyten)	meistens vorhanden (im Synzytium durch Verschiebungen entweder mehrfach oder nicht vorhanden)	vorhanden
Zellwand	nicht vorhanden	vorhanden (Chitin oder Cellulose, Glucan)	vorhanden (Cellulose, Pektin)
Vakuole	nicht vorhanden	vorhanden	vorhanden
Organisations- stufe	mehrzellig	ein- oder mehrzellig	mehrzellig
Ernährung	chemoheterotroph	chemoheterotroph	photoautotroph
Sporenbildung	nicht vorhanden	vorhanden	vorhanden
Lebensweise	saprophytisch, parasitär, symbiontisch, carnivor	saprophytisch, parasitär, symbiontisch	photoautotroph, parasitär, symbiontisch, carnivor

Pilze treten ubiquitär auf, wobei sie hauptsächlich terrestrische Ökosysteme besiedeln. Sie können mit anderen Organismen vergesellschaftet sein. Häufig treten Pilze in Symbiosen mit Algen oder Cyanobakterien (Lichenes/ Flechten) oder mit höheren Pflanzen (Mykorrhiza) auf. Ähnlich weit verbreitet wie die symbiotische Lebensweise ist der Parasitismus (z.B. Dermatophyten). Saprobionten („Fäulnisbewohner“) leben weder

parasitär noch symbiontisch. Sie ernähren sich durch Zersetzung organischen Materials und besitzen damit eine wichtige Rolle im Stoffkreislauf. [37]

Die Merkmalsausprägungen wie spezielle Strukturen und Organe innerhalb der Pilze sind recht unterschiedlich. Zu ihnen gehören sowohl einzellige, mikroskopisch kleine Vertreter wie die Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae*, aber auch vielzellige, riesige Vertreter wie der in Abschnitt 1 erwähnte dunkle Hallimasch *Armillaria ostoyae* im Malheur National Forest in Oregon. [54]

Unter den Pilzen finden sich Gattungen, die als Schimmelpilze zusammengefasst werden. Eine Abgrenzung der Schimmelpilze innerhalb der Pilze ist schwierig. Es handelt sich nicht um nah verwandte Gattungen, sondern es werden verschiedene Organismen der Abteilung Eumycota zusammengefasst, die bestimmte gemeinsame ökologische Nischen besiedeln. 1943 wurde erstmals durch Heinrich Delitsch eine ökologische und morphologische Abgrenzung vorgenommen [9]. 1988 wurden diese Kriterien durch Kreisel spezifiziert und erweitert [30]. Diese Merkmale der Schimmelpilze sind:

1. Ruderale Lebensstrategie:

Die ruderale Lebensstrategie ist besonders in stark gestörten Lebensräumen durch beispielsweise große Säurebelastungen oder Nährstoffmangel vorzufinden. Diese Organismen wachsen sehr schnell und haben eine hohe Sporulationsrate. Unter großem Stress schränken sie ihr vegetatives Wachstum ein, um vermehrt resistente Sporen bilden zu können. [18]

2. Filamentöses Wachstum:

Schimmelpilze bilden anders als z.B. Hefepilze ein Hyphenmyzel.

3. Hohe Wachstumsgeschwindigkeit:

Der Entwicklungsprozess von der keimenden Spore zur erneuten Sporulation benötigt bei Schimmelpilzen nur wenige Tage. Während des vegetativen Wachstums in dieser Zeit kann eine große Menge an Hyphenmyzel aufgebaut werden. [30]

4. Hohe Sporulations-Kapazität:

Schimmelpilz-Habitate sind häufig nur sehr kurzlebig. Dadurch ist es erforderlich, neu entstehende Substrate zu besiedeln. Die Produktion von großen Mengen Sporen erhöht die Wahrscheinlichkeit einer weiteren Besiedlung.

5. Überwiegend (oder ausschließlich) vegetative Vermehrung:



Die Reproduktion der Schimmelpilze erfolgt durch exogene oder endogene Sporen. Dadurch ist die Anwesenheit eines Sexualpartners nicht erforderlich. Es werden weder sexuelle noch asexuelle Fruchtkörper gebildet. Die energetisch aufwändigeren Prozesse der Karyogamie und Meiose finden bei Schimmelpilzen nicht statt.

6. Parasexueller Zyklus:

Beim parasexuellen Zyklus laufen sexualitätsähnliche Prozesse ab. Während der Mitose kommt es durch Heterokaryontenbildung, Crossing-over und Haploidisierung zur Rekombination der genetischen Informationen.

7. Empfindlichkeit gegenüber Boden-Fungistasis:

Fungistasis ist eine Hemmung des Pilzwachstums durch endogene oder exogene Faktoren, die nicht zu einer Abtötung führen. Durch Aufhebung dieser Faktoren (z.B. durch Entfernung des Hemmstoffes oder Verbesserung des Nährbodens) können Pilzsporen sofort wieder auskeimen und das Habitat besiedeln.

8. Ubiquitäres Vorkommen:

Organismen haben spezielle Ansprüche an ihre Umwelt, damit an dieser Stelle ein Überleben möglich ist. Dazu gehören Nährstoffe, Temperatur, Acidität, Feuchtigkeit und Belichtung. Schimmelpilze haben einen großen Toleranzbereich für diese Faktoren, weshalb sie selbst in Gebieten mit extremen Bedingungen leben können. Sie sind überall vertreten: auf unterschiedlichen Böden, in Süßwasser, auf Pflanzen oder auf anderen lebenden Organismen, z.B. dem Mensch.

9. Kosmopolitische Verbreitung:

Schimmelpilze verbreiten sich durch Sporen, die mit der Luft weitergetragen oder durch Lebewesen und Verkehrsmittel (auch über Kontinente hinweg) verschleppt werden. Dadurch sind sie nicht an begrenzte Areale gebunden – sie besitzen eine universelle geographische Verbreitung.

10. Produktion eines reichen Spektrums von Metaboliten, die in das Substrat bzw. Medium abgegeben werden:

Unter bestimmten Bedingungen, z.B. bei einem sehr niedrigen pH-Wert, werden Intermediate des Primärstoffwechsels in das Medium abgegeben, die im Überschuss gebildet werden. Solche Stoffe sind beispielsweise Enzyme und organische Säuren. Zudem werden Sekundärmetabolite gebildet wie Antibiotika und Toxine.

## 1.1.1 Systematik, Phylogenie und Morphologie

### 1.1.1.1 Systematik und Phylogenie

Wie bereits in Abschnitt 1.1 erwähnt, bilden Pilze ein eigenständiges Reich neben Pflanzen und Tieren. Dieses Reich ist so umfassend, dass im Folgenden nur ein grober Überblick darüber verschafft werden kann.

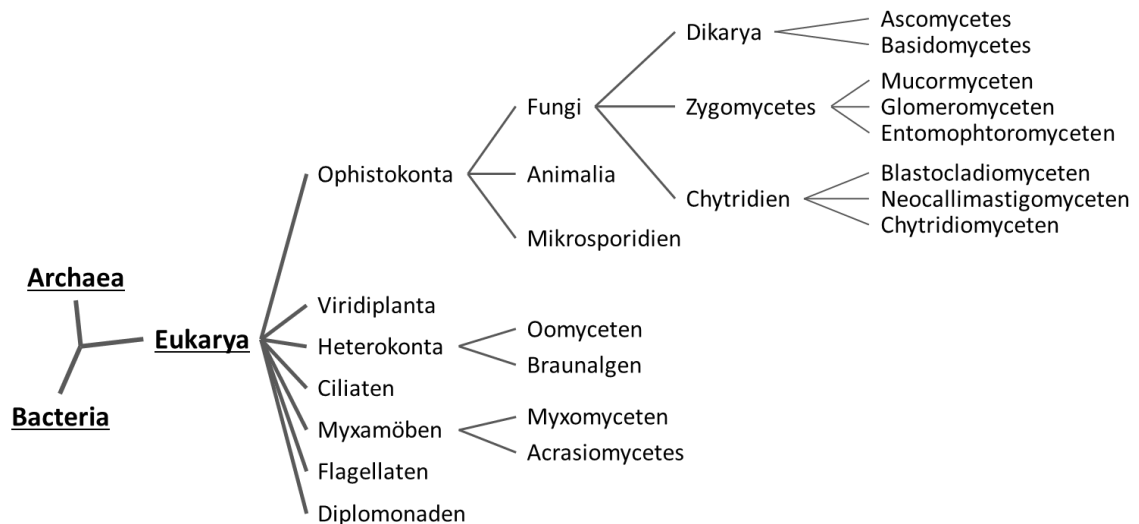


Abbildung 5: Phylogenetische Einordnung der Pilze; nach [54]

Zu Beginn der Klassifizierung aller Lebewesen wurden Pilze zu den Pflanzen gezählt. [15] Morphologische und physiologische Untersuchungen bewiesen jedoch, dass diese Einteilung nicht korrekt war. So wurden alle Organismen, die sich durch Hyphenwachstum, eine Zellwand und Vakuolen auszeichnen, als Pilze bezeichnet und damit als eigenes Reich definiert. Moderne molekularbiologische Methoden haben inzwischen bewiesen, dass es sich bei den Pilzen nicht um eine monophyletische Gruppe handelt. Sie sind hauptsächlich drei, nicht nah verwandte Gruppen von Organismen: Oomycota (Algenpilze), Myxomycota (Schleimpilze) und Eumycota (echte Pilze). [33] Eine tabellarische Übersicht über diese Gruppen ist im Anhang zu finden (siehe Abschnitt 8.2, Tabelle 19).

Die Organismen der Abteilung Myxomycota sind nicht einheitlich. Dennoch ähneln sie sich darin, dass sie unter bestimmten Lebensbedingungen amöboide Zellen ausbilden. Ihre Fortbewegung erfolgt über Pseudopodien, zudem können sie begeißelt sein. Ihre Zellwände bestehen aus Cellulose und Glycogen.

Innerhalb der Abteilung Oomycota existiert nur eine Klasse: die Oomycetes. Oomycota sind Biflagellaten. Ihrer Abteilung gehören etwa 500 bekannte Arten an. Ihre Zellwände bestehen aus Cellulose. [55] Ihr Hyphenmyzel ist unseptiert.

98% aller Pilze gehören der Abteilung der Eumycota an. Darin enthalten sind die Klassen Zygomycetes (niedere Pilze), Ascomycetes (Schlauchpilze), Basidiomycetes (Ständerpilze) und Deuteriomycetes (Fungi imperfecti). Nur in dieser Abteilung des Reiches finden sich Schimmelpilze.

Die überwiegend terrestrisch lebenden Zygomyceten umfassen weltweit etwa 600 Arten. Zu den Zygomyceten gehören Gattungen wie *Rhizopus* und *Mucor*. Die meisten Vertreter dieser Klasse ernähren sich saprotroph, das heißt von abgestorbenem Gewebe. Einige spezialisierte Arten sind auch in der Lage, lebendige Organismen (sowohl Tiere als auch Pflanzen) zu befallen. Ihr häufig stark entwickeltes Myzel besitzt keine Septen und ihre Zellwände enthalten Chitin.

Zur Klasse der Ascomycetes werden mehr als 30% aller Pilze, also etwa 30.000 Arten gezählt. Damit stellt sie die größte Klasse der Pilze dar. Dementsprechend groß sind auch die Unterschiede in Morphologie und Physiologie. Sie leben meist terrestrisch, können aber auch Salz- und Süßwasser besiedeln. Sie besitzen dickwandige, septierte Hyphen. Ascomyceten können mit Algen oder Blaualgen als Flechten in Symbiose leben. Zur Mycorrhiza-Bildung sind nur wenige Arten in der Lage. Namensgebend für die Ascomyceten ist ihr Ascus, das schlauchförmige Meiosporangium, in dem die sexuellen Sporen gebildet werden. Die bekanntesten Vertreter aus der Klasse der Ascomyceten sind die Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium*.

Die Klasse der Basidiomyceten wird als die höchstentwickelte unter den Pilzen angesehen. [11] Wie die Ascomyceten verdanken die Basidiomyceten ihren Namen den Sporenständern, den sogenannten Basidien. Hyphen der Basidiomyceten sind septiert. Die Septen sind dabei komplexer aufgebaut als bei den Ascomyceten. Als Vertreter der Basidiomyceten kann hier die Gattung *Hebeloma* genannt werden.

Deuteromyceten werden auch als imperfekte Pilze bezeichnet, da bei ihnen das Teleomorph, d.h. die Hauptfruchtform fehlt. Dabei ist nicht gesagt, ob dem Pilz die Fähigkeit zur Ausbildung des Fruchtkörpers fehlt oder ob diese Fähigkeit nur noch nicht entdeckt wurde, weil sie unter natürlichen Bedingungen nicht ausgebildet wird. Hauptsächlich werden die Arten der imperfekten Pilze den Ascomyceten zugeordnet.

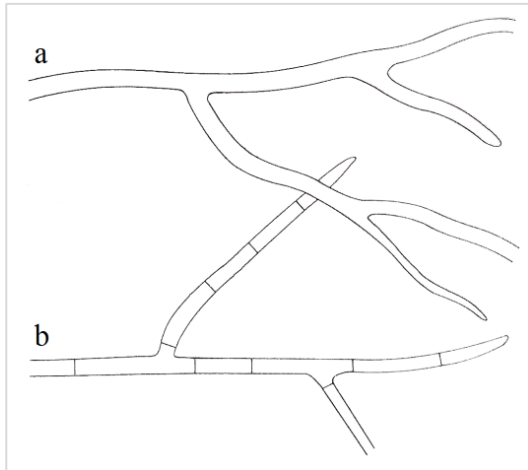
### **1.1.1.2 Vegetatives Hyphenwachstum**

Die größte Gruppe der Pilze sind Vielzeller, die als Hyphenpilze bezeichnet werden. Hyphen sind fadenförmige Vegetationsorgane, deren Durchmesser zwischen 0,5µm und über 100µm variieren kann. [55]

Bei den Hyphen werden zwei Arten unterschieden – Substrat- und Lufthyphen. Bei Substrathyphen haben sämtliche Zellen Kontakt mit dem Nährmedium. Die Lufthyphen sind aufragende Seitenzweige der Substrathyphen. Da sie keinen Kontakt mit dem Nährmedium haben, müssen sie durch die Substrathyphen ernährt werden. [37]

Das Hyphenwachstum erfolgt meist im apikalen Bereich. An den Seitenwänden der Hyphen können sich durch Verzweigungen neue Hyphenspitzen bilden. Die Seitenhyphen besitzen dabei fast immer einen geringeren Durchmesser als die Haupthyphe. Hyphen mit all ihren Verzweigungen können aufeinander zu wachsen und bilden dadurch ein netzartiges Geflecht. Die Gesamtheit dieses Hyphengeflechts wird als Myzel bezeichnet. Innerhalb des Myzels kann es zu Fusionsereignissen kommen, bei denen sich zwei Hyphen verbinden. Diese Fusionierungen werden als Anastomosen bezeichnet.

Bei den niederen Pilzen wie beispielsweise bei den Zygomyceten sind die Hyphen ungegliedert. Sie bilden damit ein Syncytium, eine polyenergide Zelle. Es werden nur dann Querwände ausgebildet, wenn Sporangien, Chlamydosporen oder Gametangien abgeschnürt werden sollen. Diese Querwände sind fest und vollständig geschlossen. Anders bei den höheren Pilzen wie den Ascomyceten oder den Basidiomyceten: Bei ihnen treten in recht regelmäßigen Abständen Scheidewände (Septen) auf. Diese Septen entstehen durch eine Vorwölbung der Zellwand nach innen. Sie werden zur Zellmitte hin meist schmaler. Im Zentrum befindet sich ein Zentralporus mit einem Durchmesser von 0,5-1µm. [55]



**Abbildung 6: Schematische Darstellung verschiedener Hyphen; a: unseptiert; b: septiert; verändert nach Weber [88]**

Die verschiedenartige Ausgestaltung der Septen und Septenporen dient als Merkmal für die Eingruppierung von Pilzen, jedoch lassen sich viele Typen nur mittels Elektronenmikroskop zuverlässig zuordnen.[55]

Die Hyphenzellwand besteht zu etwa 80-90% aus Polysacchariden (meist Chitin). Das restliche Gerüstmaterial setzt sich aus Proteinen und Lipiden zusammen.[55]

Einige Pilze sind in der Lage, Sklerotien als Überdauerungsorgane zu bilden. Sie setzen sich aus zwei Schichten zusammen: einer dicken, schützenden Außenschicht, die aus meist mehreren Zelllagen mit dicken Zellwänden besteht und einem Binnenkörper, der aus dünnwandigen Zellen besteht, die dem für den Nährstofftransport verantwortlich sind. Zusätzlich dienen Sklerotien auch der Verbreitung des Schimmelpilzes, da sie mit dem Wind weggetragen oder von Tieren verschleppt werden können.

### **1.1.1.3 Sporenbildung**

Die Art der Sporenbildung ist von der Gattung abhängig. Hyphenpilze können sich zusätzlich zu dem vegetativen Hyphenwachstum auch durch vegetative Sporen vermehren. Diese asexuellen Sporen entstehen durch mitotische Kernteilungen. Sie sind daher genetisch mit dem ursprünglichen Individuum identisch. Die Bildung der Sporen kann endogen oder exogen erfolgen. Bei der endogenen Entwicklung werden die Sporen in Sporangien gebildet. Sporangien sind Zellen, die auf Sporenbildung spezialisiert sind und meist durch Anschwellung des letzten Abschnittes einer Hyphe entstehen. Bei der exogenen Entwicklung werden die Sporen von den Sporenträgern abgeschnürt. In dieser Form werden sie als Konidiosporen oder Konidien bezeichnet. Sie sind charakteristische

Verbreitungsorgane der höheren Pilze wie den Ascomyceten und Basidiomyceten. Auch Hyphen selbst können sich zu Sporen entwickeln. Dabei zerfallen sie zu sogenannten Arthrosporen.

Die hohe Rate, mit der solche vegetativen Sporen gebildet werden können, trägt zu einer raschen Verbreitung des jeweiligen Hyphenpilzes bei.[50]

Anders als die vegetativen Sporen gehen die sexuellen Sporen aus der Meiose hervor, wodurch die entstehenden Individuen genetisch verschieden sind. Aber wie bei den vegetativen Sporen können diese Sporen zu einem vegetativen Myzel auskeimen. Die Organe, in denen die Sporenbildung stattfindet, unterscheiden sich je nach Gattung. Die Entstehung der Sporen ist noch einmal in den Abschnitten 1.1.2.3, 1.1.2.4 und 1.1.2.5 erläutert.

## **1.1.2 Physiologie**

### **1.1.2.1 Vorkommen und Verbreitung**

Schimmelpilze kommen ubiquitär und kosmopolitisch vor. Das bedeutet, dass sie überall, im Boden, in der Luft und im Wasser sowie auf allen Kontinenten zu finden sind.[33]

Hauptreservoir der Schimmelpilze sind das Erdreich und organische Substrate. Vollständige Aufzählungen aller im Boden vorkommenden Schimmelpilze existieren nicht. Jedoch sind häufig Arten der Gattungen *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium* und *Scopulariopsis* zu finden. Neben der Zusammensetzung der Böden sind vor allem die Temperaturen entscheidend für die Pilzflora. So nimmt die Häufigkeit von *Aspergillus*, der wärmere Temperaturen bevorzugt, in mitteleuropäischen Böden von Süden nach Norden ab. Dagegen sind die Gattungen *Fusarium* und *Penicillium*, die den mittleren Temperaturbereich bevorzugen, überwiegend in den gemäßigten Zonen vorzufinden.[50]

Schimmelpilze verbreiten ihre Sporen in der Regel über den Luftweg. Dadurch enthält jede atmosphärische Luft solche Sporen. Die Gesamtsporenkonzentrationen können sehr stark voneinander abweichen. Sie ist abhängig von Ort, Höhe, Tageszeit und Jahreszeit sowie von Umgebungs- und Klimabedingungen (z.B. Vegetation, Temperatur, Feuchtigkeit oder Windgeschwindigkeit). Auch zwischen Innen- und Außenräumen gibt es Schwankungen.[50]

Im Wasser können ebenfalls Schimmelsporen nachgewiesen werden. Isoliert werden konnten unter anderem Cephalosporium, Cladosporium, Penicillium, dennoch ist über das Vorkommen im Wasser bisher nur wenig bekannt. Selbst in gechlortem Wasser konnten die Gattungen Acremonium, Aspergillus, Cladosporium, Fusarium und Penicillium nachgewiesen werden.[50]

### 1.1.2.2 Wachstumsbedingungen

Wachstum ist eine irreversible Zunahme an lebender Substanz. Um zu wachsen besitzt jeder Organismus spezielle Anforderungen an seine Umwelt. Pilze benötigen nur eine geringe Menge an Makro- und Mikroelementen.

Wichtigste Wachstumsfaktoren sind die Zusammensetzung des Nährmediums, die Temperatur, die Wasseraktivität und der pH-Wert. Untersuchungen haben gezeigt, dass ein Nährmedium, das die Mindestanforderungen von Schimmelpilzen erfüllt, aus einer Kohlenstoffquelle und einer Stickstoffquelle besteht. Zusätzlich müssen noch die Makroelemente Kalium, Phosphor, Magnesium, Stickstoff, Sulfat und Calcium enthalten sein. Außerdem ist das Vorhandensein der Mikroelemente Eisen, Kupfer, Mangan, Zink und Molybdän notwendig.[33]

Da Schimmelpilze sowohl ubiquitär als auch kosmopolitisch vorkommen, sind sie häufig auch Temperaturschwankungen ausgesetzt. Als Schutz davor besitzen sie oft einen breiten Toleranzbereich. Es wird zwischen mesophilen (0-50°C, Optimum: zwischen 15 °C und 40 °C), psychophilen (kälteliebend; ca. 0-20°C, Optimum: zwischen 0 °C und 17 °C) und thermophilen (wärmeliebend; 20- über 50 °C) Schimmelpilzen unterschieden. In Tabelle 2 sind die Temperaturanforderungen ausgewählter Schimmelpilzarten zusammengefasst.

**Tabelle 2: Ausgewählte Schimmelpilze und ihre minimalen, optimalen und maximalen Temperaturen, bei denen ein Myzelwachstum zu beobachten ist [36], [50], [86]**

Spezies	Temperatur-Minimum in °C	Temperatur-Optimum in °C	Temperatur-Maximum in °C
<i>Acremonium strictum</i>	*	20	*
<i>Alternaria alternata</i>	-2 bis +5	20-25	31-32
<i>Aspergillus candidus</i>	3-4	20-24	40-42
<i>Aspergillus chevalieri</i>	10	33	42

Spezies	Temperatur-Minimum in °C	Temperatur-Optimum in °C	Temperatur-Maximum in °C
<i>Aspergillus flavus</i>	6-8	35-37	42-45
<i>Aspergillus niger</i>	6-8	35-37	45-47
<i>Aspergillus repens</i>	4-5	25-27	38-40
<i>Candida albicans</i>	*	33	38-42
<i>Cladosporium herbarum</i>	-7 bis -5	24-25	30-32
<i>Fusarium</i> sp.	-3 bis +7	25-30	31-37
<i>Mucor</i> sp.	-4 bis +5	20-25	30-35
<i>Penicillium chrysogenum</i>	-4	25-28	32-33
<i>Penicillium expansum</i>	-3	25-26	33-35
<i>Rhizopus stolonifer</i>	10	25-26	25-27

\* keine Angabe

Schimmelpilze benötigen wie alle Organismen Wasser zum Leben. Die Menge an frei verfügbarem Wasser, das nicht von löslichen Verbindungen wie Salzen, Kohlenhydraten oder Eiweißen gehalten wird, wird als Wasseraktivität ( $A_w$ ) bezeichnet. Sie berechnet sich über folgende Formel:

$$A_w = \frac{p}{p_0} = \frac{\text{Wasserdampfdruck über einem Material}}{\text{Wasserdampfdruck über reinem Wasser}}$$

Sie wird im Bereich zwischen 0 (kein Wasser verfügbar) und 1 (Kondenswasserbildung) angegeben.

Wie Sautour et al. 2002 nachgewiesen haben, ist die Wasseraktivität einer der wichtigsten Einflussfaktoren für das Wachstum von Pilzzellen und hat einen höheren Einfluss als die Temperatur. [51] Schimmelpilze benötigen eine Wasseraktivität von mindestens 0,77 (*Aspergillus niger*). Häufig liegt das Minimum höher, wie beispielsweise bei *Alternaria alternata* (0,85), *Penicillium chrysogenum* (0,81) oder *Rhizopus stolonifer* (0,92–0,94). Für ein optimales Wachstum sollte der Wert für das frei verfügbare Wasser möglichst nahe 1 liegen.



**Tabelle 3: Minimumwerte der Wasseraktivität ( $A_w$  – Wert) für die Entwicklung von einigen häufigen Schimmelpilzen [50], [55]**

Pilzart	Myzelwachstum	Sporenbildung	Sporenkeimung
<i>Alternaria alternata</i>	0,85	0,90	0,94
<i>Aspergillus flavus</i>	0,80	0,85	0,80
<i>Aspergillus niger</i>	0,88	0,93	0,84
<i>Aspergillus repens</i>	0,65	0,75	0,72
<i>Cladosporium herbarum</i>	0,85	0,88	0,88
<i>Mucor racemosus</i>	0,92	0,95	*
<i>Penicillium expansum</i>	0,82	0,85	0,85
<i>Penicillium italicum</i>	0,87	0,89	0,89
<i>Penicillium rugulosum</i>	0,85	0,85	0,86
<i>Rhizopus stolonifer</i>	0,92	0,96	0,93
<i>Trichothecium roseum</i>	0,86	0,92	0,90

\* keine Angabe

Die meisten Organismen gedeihen bei einem neutralen pH-Wert (pH 7,0). Viele Pilze entwickeln sich auch im neutralen bis leicht sauren Bereich optimal (das Optimum liegt meist zwischen pH 5,0-7,0). Jedoch können Pilze und vor allem Schimmelpilze einen weiten pH-Bereich tolerieren. Darum werden sie auch als euryazide Organismen bezeichnet. Vor allem stark saure Umgebungen können toleriert werden. Das Minimum einzelner Schimmelpilze wie *Aspergillus niger* (pH 1,5) oder *Aspergillus repens* (pH 1,8) liegt zwischen pH-Wert 1 und 2.

**Tabelle 4: Ausgewählte Schimmelpilze und die pH-Werte, bei denen ein Myzelwachstum beobachtet werden kann [50]**

Spezies	pH-Minimum	pH-Optimum	pH-Maximum
<i>Alternaria alternata</i>	<2,7	5,4	>8,0
<i>Aspergillus candidus</i>	2,1	*	7,7
<i>Aspergillus flavus</i>	2,5	7,5	>10,5
<i>Aspergillus niger</i>	1,5	*	9,8
<i>Aspergillus repens</i>	1,8	*	8,5
<i>Aspergillus versicolor</i>	3,0	4,0-6,0	10,0
<i>Cladosporium herbarum</i>	3,1	*	7,7

Spezies	pH-Minimum	pH-Optimum	pH-Maximum
<i>Fusarium sp.</i>	2,0-3,5	6,0-7,0	9,0-10,5
<i>Mucor sp.</i>	*	7,0	*
<i>Penicillium cyclopium</i>	2,0	*	10,0
<i>Penicillium verrucosum</i>	2,0	6,0-7,0	10,0
<i>Scopulariopsis sp.</i>	*	9,0-10,0	*

\* keine Angaben

Pilze leben chemoheterotroph. Damit sind sie bei der Energiegewinnung vom Sonnenlicht unabhängig. Dennoch haben Untersuchungen gezeigt, dass Pilze Licht wahrnehmen.[44] Es wurde beobachtet, dass die Fruktifikation durch das Licht beeinflusst wird. Bei Versuchen mit *Aspergillus niger*, der bei einem zwölfstündigen Rhythmus von Hell- und Dunkelphasen inkubiert wurde, zeigte sich ein deutliches Ringmuster. Dabei handelte es sich um Konidiosporen, die in periodischen Abständen gebildet wurden. Bei anderen Schimmelpilzen wie *Aspergillus flavus* konnte eine Wachstumsinhibierung beobachtet werden.



Abbildung 7: Periodizität bei der Sporenbildung hervorgerufen durch Hell- und Dunkelphasen bei *Aspergillus niger* [33]

### 1.1.2.3 Lebenszyklus der Ascomyceten

Ascomyceten können sich sowohl sexuell als auch asexuell vermehren. Dazu verfügen sie über zwei Mechanismen: einen anamorphen und einen teleomorphen Lebenszyklus (siehe Abbildung 8).

Im anamorphen, also asexuellen Zyklus, werden haploide Konidien gebildet. Diese verbreiten sich mit der Luft oder anderen Lebewesen, keimen bei günstigen Bedingungen aus und bilden ein neues Mycel.

Der teleomorphe, also geschlechtliche, Zyklus ist komplexer. Durch Bildung von Ascogonen beginnt die sexuelle Phase. Die Trichogyne, die vom Ascogon getragen wird, empfängt die männlichen Kerne, die von Antheridien stammen. Aus dem Ascogon wachsen daraufhin ascogene Hyphen, in denen die Kerne noch nicht verschmolzen sind (dikaryotische Hyphen). Es folgen mehrere mitotische Zellteilungen. Dann bildet sich aus der Hyphenspitze der Ascus, in dem die Kernverschmelzung stattfindet (diploid). Durch weitere Teilungen, darunter eine meiotische Teilung, entstehen haploide Ascosporen.

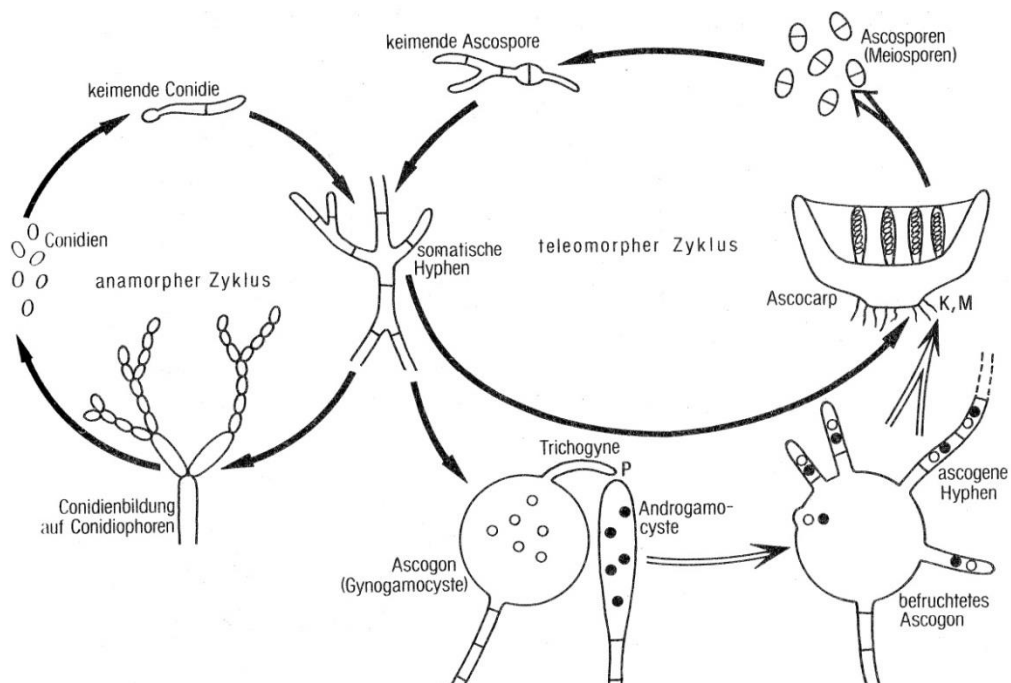
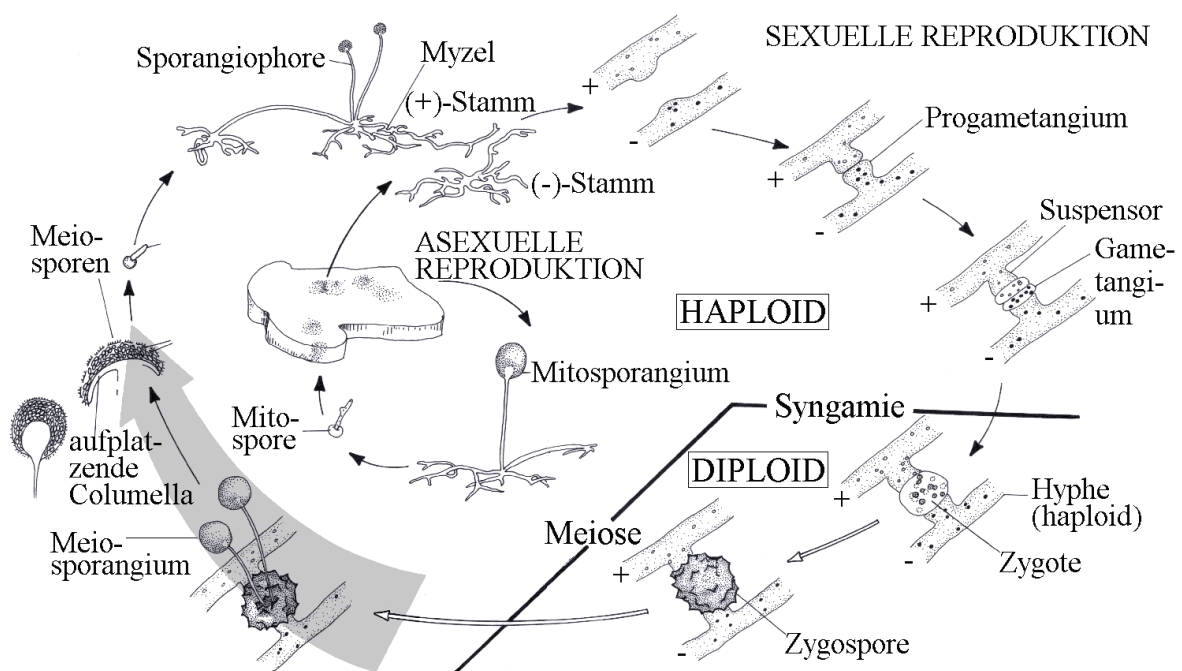


Abbildung 8: Lebenszyklus der Ascomyceten [11]

#### 1.1.2.4 Lebenszyklus der Zygomyceten

Auch bei den Zygomyceten wird zwischen sexuellem und asexuellem Zyklus unterschieden. Bei der sexuellen Reproduktion wachsen Seitenäste senkrecht aus dem Myzel heraus. Am Ende schwellen sie zu einem Köpfchen an, dem Sporangium. Die darin entwickelten Sporangiosporen keimen nach ihrer Verbreitung aus und bilden ein neues Myzel. Diese Form der Vermehrung überwiegt unter natürlichen Bedingungen.

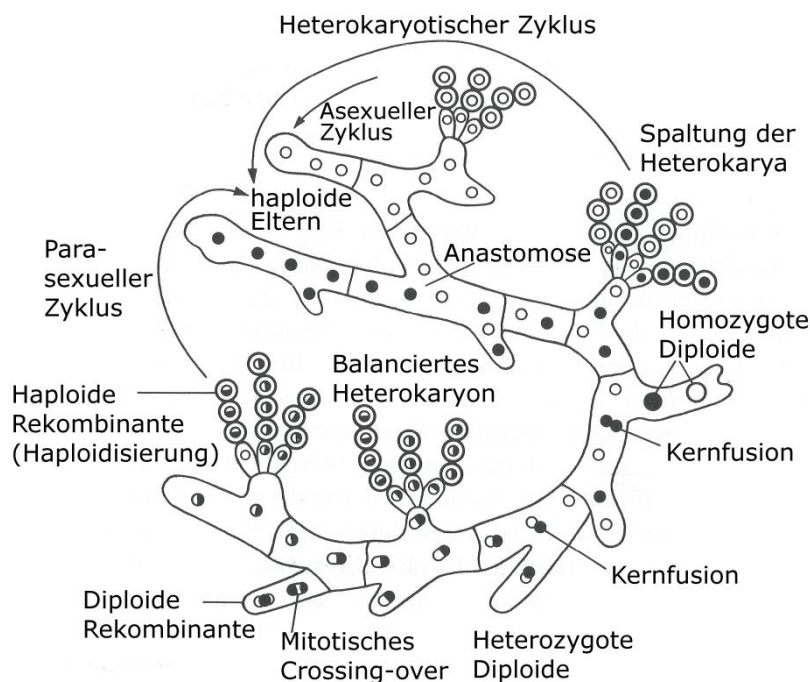
Bei der geschlechtlichen Fortpflanzung benötigt es zwei physiologisch verschiedene, kompatible Myzelien, deren gegenseitige Erkennung über Pheromone erfolgt.[44] Bei einem Aufeinandertreffen jeweils eines (+)- und (-)-Stammes kommt es zur Ausbildung eines Gametangiums, in dem sich die haploiden Kerne befinden. Es kommt zu Kernverschmelzungen. Um die so entstandenen diploiden Zygoten bildet sich ein dickwandiges und widerstandsfähiges Zygosporangium. In diesem Stadium kann der Pilz monatelang ausharren. Unter günstigen Umweltbedingungen bilden sich Meiosporangien, welche die haploiden Meiosporen in die Umgebung freisetzen.



**Abbildung 9: Lebenszyklus der Zygomyceten am Beispiel von *Rhizopus stolonifer*; verändert nach [87]**

### 1.1.2.5 Lebenszyklus der Deuteromyceten

Die Deuteromyceten werden auch als imperfekte Pilze (*Fungi imperfecti*) bezeichnet. Im Gegensatz zu den eben beschriebenen Ascomyceten und Zygomyceten fehlt in ihrem Entwicklungszyklus das sexuelle Stadium. Ihre Vermehrung erfolgt hauptsächlich durch mitotisch gebildete Sporen, die über die Luft und andere Organismen verbreitet werden. Sie sind aber auch in der Lage, sich durch ihr Myzel fortzupflanzen. Das geschieht beispielsweise durch die Bildung von Sklerotien. Eine Vielzahl der Deuteromyceten gleicht das Fehlen des Sexualvorganges und die damit fehlenden Möglichkeiten einer meiotischen Rekombination durch parasexuelle Vorgänge aus.



**Abbildung 10:** Schematische Darstellung eines parasexuellen Zyklus am Beispiel von *Penicillium chrysogenum*; nach [88]

### 1.1.3 Schadwirkung und Bekämpfung

2014 war ein großartiges Jahr für Pilzsammler. Temperaturen und Feuchtigkeit begünstigten das Pilzwachstum. Mit zunehmender Zahl der Pilze nimmt aber auch die Anzahl der Giftpilze und damit die der Vergiftungen zu. Die Tendenz der Pilzvergiftungen der letzten Jahre ist steigend.[66]

Eine Vergiftung durch den Verzehr von Pilzfruchtkörpern wird als Myzetismus bezeichnet. Das Gift, das vom Pilz produziert wird, wird in den Zellen des Fruchtkörpers gespeichert.

Nach dem Verzehr kommt es abhängig von Menge und Art des aufgenommenen Pilzgiftes zu Krankheitsanzeichen, die von harmlosen Bauchschmerzen bis hin zum totalen Versagen verschiedener Organe reichen.

Weiterhin werden Mykosen und Mykotoxikosen von Pilzen verursacht. Eine Mykose ist eine Infektionskrankheit, die durch Schimmelpilze bei Mensch und Tier hervorgerufen wird. Das Auftreten einer solchen Infektion wird durch Faktoren begünstigt oder überhaupt erst ermöglicht, die das Immunsystem schwächen. Zu diesen Einflüssen zählen Vorerkrankungen wie Diabetes mellitus oder Tuberkulose, Langzeitbehandlung mit Breitspektrumantibiotika, immunsuppressive Behandlungen nach Organtransplantationen oder auch Alkoholismus.[37] Mykosen werden nach verschiedenen Gesichtspunkten eingeteilt. Die gebräuchlichste Unterscheidung ist die zwischen Dermatomykosen (nur oberflächlich auf der Haut bis maximal in das subkutane Gewebe) und Systemmykosen (tiefgehende Mykosen, die auch die inneren Organe und die Lymphgefäße befallen). Andere Unterteilungen erfolgen beispielsweise nach der Art des Erregers oder Lokalisation der Erkrankung. Die häufigste Mykose, an der ca. 30-40% der europäischen Bevölkerung leiden, ist Tinea pedis (Fußmykose).[55] Als wichtige Erreger von Mykosen sind *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* und *Trichophyton rubrum* zu nennen.[37]

Bei einer Mykotoxikose handelt es sich um eine Vergiftung mit Mykotoxinen, also für Mensch und Tier giftigen Substanzen, die von einigen Schimmelpilzen synthetisiert werden. Diese toxinbildenden Pilze besiedeln Pflanzenorgane wie Früchte, Blüten oder Blätter. Schon während der Besiedlung oder später bei der anschließenden Lagerung der Pflanzen und Früchte werden die Giftstoffe gebildet und gelangen in den Wirtsorganismus. Die Toxine entfalten nach der unbewussten Aufnahme selbst nach Verarbeitung zu Futter- oder Lebensmitteln noch ihre Wirkung im menschlichen oder tierischen Körper. Diese Wirkungen reichen von einfachen Symptomen wie Hautreizungen, Übelkeit, Magenschmerzen und Erbrechen bis hin zu schwerwiegenden Folgen wie Organschäden (z.B. von Herz, Leber oder Niere), Schädigung des Erbguts und Auslösen von Krebs. Welche Wirkungen die verschiedenen Toxine im Einzelnen auf den Menschen haben, ist Tabelle 5 zu entnehmen.

**Tabelle 5: Übersicht ausgewählter Mykotoxine, deren Wirkung auf den Menschen und der Hauptproduzenten; abgewandelt nach Kück et al. [33]**

<b>Mykotoxin</b>	<b>Wirkung</b>	<b>Schimmelpilz (Hauptproduzenten)</b>
Aflatoxine	kanzerogen, mutagen, hepatotoxisch, nephrotoxisch, immunotoxisch, neurotoxisch	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i>
Fumonisine	teratogen, vermutlich kanzerogen und mutagen, hepatotoxisch, neurotoxisch	<i>Fusarium anthophilum</i> , <i>Fusarium hygamai</i> , <i>Fusarium moniliforme</i> , <i>Fusarium proliferatum</i>
Griseofulvin	Beeinträchtigung des Zentralnervensystems und Magen-Darm- Trakts, kanzerogen, mutagen, teratogen, antibiotisch (Dermatophyten)	<i>Penicillium griseofulvum</i>
Mutterkorn-alkaloide	vasokonstriktive & muskelstraffende Wirkung, neurotoxisch	<i>Claviceps purpurea</i>
Ochratoxin A	nephrotoxisch, dermatotoxisch, kanzerogen, mutagen, teratogen	<i>Aspergillus carbonarius</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Penicillium chrysogenum</i> , <i>Penicillium verrucosum</i> , <i>Penicillium viridicatum</i>
Trichothecene	zytotoxisch, hämorrhagisch, neurotoxisch, immunotoxisch, Schädigung der Lungenbläschen	<i>Fusarium sp.</i> , <i>Acremonium sp.</i> , <i>Stachybotrys chartarum</i> <i>Trichoderma sp.</i>
Zearalenon	Wirkung als Östrogen, Infertilität, kanzerogen, neurotoxisch, dermatotoxisch, Schädigung der Blutbildungsorgane	<i>Fusarium sp.</i>

Die Bekämpfung von Mykosen ist recht schwierig. Es erfolgt zumeist eine medikamentöse Behandlung mit Antimykotika. Dabei kommen Stoffe wie das Griseofulvin, das gegen

Dermatophyten wirkt oder auch Amphotericin B, das auch bei Systemmykosen Anwendung findet, zum Einsatz.

Neben der Fähigkeit, Mykosen und Mykotoxikosen auszulösen, haben Schimmelpilze noch weitere schädliche Auswirkungen auf ihre Umwelt. Während der Besiedlung der Pflanzen kommt es nicht nur zur Bildung der für Menschen gefährlichen Mykotoxinen, sondern auch zur Zerstörung der befallenen Pflanzenteile oder sogar der kompletten Pflanze. Durch die Weiterverarbeitung der Pflanzen können auch andere Lebensmittel kontaminiert werden, die dann wesentlich schneller verderben.

Schimmelpilze wachsen nicht nur auf pflanzlichem oder tierischem Gewebe. Sie können auch Materialien wie Gummi und Leder oder in Gebäuden Wände und Tapeten befallen. Das dichte Pilzgeflecht breitet sich in diesen Materialien aus und zerstört sie damit. Wenn Schimmelpilze in Wohnungen auftreten, stellen sie ein großes Gesundheitsrisiko dar, da ihre Sporen Krankheiten z.B. Asthma oder Allergien auslösen können.



**Abbildung 11: Schimmelbefall auf einer Zitrone [67]**



**Abbildung 12: Schimmelbefall auf einer Raumdecke [67]**

#### **1.1.4 Anwendungen**

In der Natur finden ständig Umsetzungsprozesse statt. Einen wesentlichen Anteil daran haben die Pilze. Oft liegen Schaden und Nutzen dabei eng beieinander. Dermatophyten beispielsweise lösen bei Mensch und Tier Mykosen aus. Für das Waldökosystem sind sie allerdings unverzichtbar, da sie Keratin verwerten. Ein weiteres Beispiel ist der Ascomycet *Claviceps purpurea* (Mutterkornpilz), der bevorzugt auf Roggen parasitär wächst. Die Sklerotien dieses Pilzes lösen bei Aufnahme beim Menschen Ergotismus aus. Auf der anderen Seite decken Mutterkornalkaloide aber auch ein breites Wirkungsspektrum bei der Therapie von Uterusatonie, postpartalen Blutungen, Migräne, Bluthochdruck,



Hyperprolaktinämie, Akromegalie und Parkinsonismus ab.[32] Aus diesem Pilz kann auch Lysergsäure gewonnen werden, aus der das als Partydroge bekannte LSD synthetisiert werden kann.

Es finden sich unter den Schimmelpilzen eine Vielzahl von Arten, die für den Menschen positive Effekte besitzen. Sie werden sowohl in der Produktion biotechnologischer Erzeugnisse als auch in der Lebensmitteltechnologie eingesetzt.

#### **1.1.4.1 Biotechnologie**

Im Bereich der Biotechnologie besitzen Schimmelpilze eine große Bedeutung. Besonderes Augenmerk liegt dabei auf der industriellen Produktion ihrer Primär- und Sekundärmetabolite. Dazu gehören unter anderem Enzyme, Steroide, Immunsuppressiva, organische Säuren, Antibiotika und Vitamine.

#### **Organische Säuren**

Mithilfe von Schimmelpilzen können verschiedenste organische Säuren wie Zitronensäure, Milchsäure, Gluconsäure und Itaconsäure produziert werden. Die wirtschaftlich bedeutsamste Rolle kommt der Zitronensäure zu.

Zitronensäure (2-Hydroxypropan-1,2,3-tricarbonsäure) ist ein Produkt des Primärstoffwechsels. Mit 0,9 Milliarden Euro Umsatz auf dem Weltmarkt ist ihr Hauptproduzent der Schimmelpilz *Aspergillus niger*. Zitronensäure wird als Säuerungsmittel, Säurearoma, Konservierungsstoff sowie zur pH-Regulation eingesetzt.[33]

Als Grundstoff für Biokunststoffe wird Milchsäure ebenfalls großtechnisch (250.000 t pro Jahr) produziert.[50] Bei der Produktion kommt der Schimmelpilz *Rhizopus oryzae* zum Einsatz. Dieser ist im Gegensatz zu den bakteriellen Produzenten dazu in der Lage, ausschließlich L-(+)-Milchsäure zu synthetisieren. [33]

Diese und weitere in der Lebensmittelindustrie verwendeten organischen Säuren, deren Produktion durch Schimmelpilze erfolgt, sind in Tabelle 6 zusammengefasst.

**Tabelle 6: Organische Säuren mit (potentiellem) Nutzen für die Lebensmittelindustrie, die durch Schimmelpilze produziert werden; nach Stahl et al. [58]**

Organische Säure	Verwendung	Schimmelpilz
Äpfelsäure	- Säuerungsmittel	<i>Paecilomyces varioti</i>
Ascorbinsäure	- Konservierungsmittel - Nahrungsergänzungsmittel	<i>Aspergillus sp.</i> , <i>Torula sp.</i> , <i>Penicillium sp.</i>
Gluconsäure	- Komplexbildner - langsam wirkendes Säuerungsmittel - Konservierungsmittel	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Penicillium spec.</i>
Itaconsäure	- Bindemittel	<i>Aspergillus terreus</i>
Milchsäure	- Säuerungsmittel - Konservierungsmittel	<i>Rhizopus oryzae</i>
Zitronensäure	- pH-Regulator - Säuerungsmittel - Säurearoma - Konservierungsmittel - Lipid-Antioxidantie - Emulgator	<i>Aspergillus niger</i>

## Antibiotika

August 1928 – Alexander Fleming kehrte aus dem Urlaub zurück an seinen Arbeitsplatz. Bei der Untersuchung der Petrischalen, die in der Zwischenzeit kein anderer angefasst hatte, fiel dem Forscher auf, dass ein Schimmelpilz auf der Platte mit Staphylokokken gewachsen war und um den Pilz herum die Bakterien nur noch vereinzelt vorzufinden waren. Diese eher zufällige Entdeckung führte später zur Entwicklung des Penicillins. [34]

Antibiotika sind heute nicht mehr aus der modernen Medizin wegzudenken. Für die Herstellung sind vor allem Schimmelpilze der Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus* von besonderer Bedeutung.

Penicillin, ein Antibiotikum, das überwiegend gegen Gram-positive Bakterien wirkt, wird heute mit dem Schimmelpilz *Penicillium chrysogenum* synthetisiert. Es verhindert den korrekten Aufbau der bakteriellen Zellwand. Das Penicillin-Derivat Ampicillin dagegen

besitzt die Eigenschaft, gegen Gram-positive wie auch Gram-negative Bakterien zu wirken. Dadurch ist es gerade für die Gentechnik von großem Interesse.[33]

Cephalosporin C ist ein Antibiotikum, das dem Penicillin in seiner chemischen Struktur ähnelt. Es wird von dem Schimmelpilz *Acremonium chrysogenum* produziert und wirkt besonders gut gegen Gram-negative Bakterien.[33]

## Vitamine

Für Mensch und Tier sind Vitamine essentielle Stoffe. Vitamine sind für den Stoffwechsel und somit für den gesamten Organismus lebensnotwendig. Pflanzen und Pilze besitzen die Fähigkeit, ihre benötigten Vitamine selbst zu synthetisieren. Einige Pilzarten produzieren mehr davon, als sie für ihren Stoffwechsel benötigen. Die überflüssigen Stoffe werden von ihnen in das sie umgebende Medium abgegeben. Diese Eigenschaft macht die Pilze für die technische Produktion (z.B. Nahrungsergänzungsmittel) interessant. In Tabelle 7 ist eine Übersicht über solche Vitamine und deren Produzenten zu finden.

**Tabelle 7: Auswahl an Vitaminen, die mit Schimmelpilzen produziert werden [59]**

<b>Vitamin</b>	<b>Funktion</b>	<b>Schimmelpilze</b>
Ascorbinsäure (Vitamin C)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Radikalfänger</li> <li>- Cofaktor in Redoxreaktionen</li> </ul>	<i>Aspergillus sp.</i> , <i>Torula sp.</i> , <i>Penicillium sp.</i>
β-Carotin (Pro-Vitamin A)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Umwandlung in Retinol (Vitamin A<sub>1</sub>: Bestandteil des Sehpigments, Wachstumsfaktor, beteiligt bei Testosteronbildung)</li> </ul>	<i>Neurospora crassa</i> , <i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i> , <i>Mc. circinelloides</i> , <i>Phycomyces blakesleeanus</i> , <i>Fusarium fujikuroi</i>
Pantothensäure (Vitamin B <sub>5</sub> )	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bestandteil von Coenzym A</li> <li>- Bestandteil des Acyl-Carrier-Proteins</li> <li>- Beteiligung an der Wundheilung</li> </ul>	<i>Fusarium oxysporum</i>
Riboflavin (Vitamin B <sub>2</sub> )	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Vorstufe für Flavin-Coenzyme (FAD, FMN)</li> </ul>	<i>Eremothecium ashbyii</i> , <i>Ashbya gossypii</i>

#### 1.1.4.2 Lebensmitteltechnologie

Pilze werden in den verschiedensten Bereichen der Lebensmittelindustrie eingesetzt. Besonders bekannt und beliebt sind Speisepilze wie Champignons (*Agaricus*), Pfifferlinge (*Cantharellus cibarius*) oder Steinpilze (*Boletus*). Es gibt aber auch essbare Schimmelpilze wie beispielsweise *Penicillium roqueforti*, der Käse veredelt oder den Hefepilz *Saccharomyces cerevisiae*, mit dem Brot, Bier und Wein hergestellt werden.

In den meisten Fällen sind es die Enzyme, die von den Pilzen abgesondert werden, weswegen die Schimmelpilze in der Lebensmittelindustrie zum Einsatz kommen. Lebensmittel, die mit Schimmelkulturen beimpft wurden, werden unter speziellen Bedingungen inkubiert. Die Enzyme, die dabei auf oder in das Lebensmittel abgegeben werden, bauen dann das Ausgangsmaterial ab oder um. Wo und warum Schimmelpilze in der Lebensmittelproduktion eingesetzt werden, kann der Übersicht (Tabelle 4) entnommen werden.

**Tabelle 8: Auflistung bekannter Lebensmittel, an deren Herstellung Schimmelpilze beteiligt sind; Verändert nach Kück et al. [33]**

Lebensmittel	Verwendung	Schimmelpilz	Nutzen
Blauschimmelkäse	- proteinreiche Nahrung	<i>Penicillium roqueforti</i>	- Veränderung von Geschmack und Geruch
Miso	- proteinreiche Nahrung - Würzmittel	<i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Aspergillus sojae</i>	- Aufschluss der schwer verdaulichen Sojabohne - Veränderung des Aromas
Quorn	- proteinreiche Nahrung (als Fleischersatz)	<i>Fusarium venenatum</i>	- Biomasseproduktion zur Herstellung der Fleischimitate
Sake (Reiswein)	- alkoholhaltiges Getränk	<i>Aspergillus oryzae</i>	- Umwandlung von Stärke in Glucose für späteren Gärvorgang
Salami	- proteinreiche Nahrung	<i>Penicillium nalgiovense</i> , <i>Penicillium chrysogenum</i>	- Schutz vor Austrocknung - Schutz vor Sauerstoff- und Lichteinflüssen - Hinderung am Ranzigwerden - Erhöhung des pH-Wertes - Abgabe von Aromastoffen

Lebensmittel	Verwendung	Schimmelpilz	Nutzen
Sojasoße	- Würzmittel	<i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Aspergillus sojae</i>	- Aufschluss der schwer verdaulichen Sojabohne - Abbau unerwünschter Bestandteile (z.B. Trypsin-Inhibitoren)
Weißschimmelkäse	- proteinreiche Nahrung	<i>Penicillium camemberti</i>	- Veränderung von Konsistenz und Aroma - Schutz vor Infektionen durch andere Pilze

## 1.2 Forensische Mykologie

### 1.2.1 Allgemeines

Die Mykologie ist ein Teilbereich der Biologie. Dieser Wissenschaftszweig beschäftigt sich mit allen Problemen, die mit pilzlichen Organismen im Zusammenhang stehen. In der Forensik geht es um das systematische identifizieren, analysieren und rekonstruieren krimineller Handlungen. Bei der forensischen Mykologie handelt es sich damit um die kriminalistisch genutzte Pilzkunde.

Obwohl Schimmelpilze von Rechtsmedizinern auf der Oberfläche von Leichen entdeckt wurden, wurden sie weder genauer bestimmt noch als forensisches Werkzeug angesehen. Dennoch kam die Mykologie in den letzten Jahren bereits in verschiedenen Situationen zum Einsatz.[22]

Die Analyse von Pilzsporen ist ein Teilgebiet der Palynologie, mit deren Hilfe bereits mehrfach in der Kriminalistik gearbeitet wurde. Im Jahr 2014 wurde z.B. über eine Vergewaltigung berichtet, bei der mithilfe der Palynologie der Täter überführt wurde. Unter den analysierten Sporen befanden sich auch zahlreiche Pilzsporen, die bewiesen, dass sich der Täter am Tatort aufgehalten hatte.[91]

Durch ihre Fähigkeit, auch Knochen zu besiedeln, können Pilze zudem noch zur Ermittlung der Dauer einer Freilegung von Knochen genutzt werden. Bei einer nur kurzzeitigen Lagerung von Knochen im Freien sind Schimmelpilze zu erwarten. Wenn dieser Zeitraum mehrere Jahre umfasst, kann mit einem Bewuchs von Flechten gerechnet

werden. Diese können (beispielsweise durch saisonal verschieden gefärbte Sporophoren) Hinweise auf den Zeitpunkt der Aussetzung liefern.

Ebenso können Pilze Informationen zu Grabstellen liefern. Ammonium-Pilze (z.B. *Hebeloma*) wachsen auf stark stickstoffhaltigem Boden. Dadurch können sie auf Stellen, an denen Leichname begraben sind, hinweisen (siehe Abschnitt 2).

Die Mykologie kann ebenfalls zur Ermittlung der Todesursache genutzt werden. In Fällen von Vergiftungen sind häufig Pilze mit in die Betrachtungen einzubeziehen. Vor allem Hutpilze wie der grüne Knollenblätterpilz sind (beabsichtigt oder unabsichtlich) Ursache für solche Vergiftungen. Toxikologische Untersuchungen bringen präzise Angaben über Art und Menge des aufgenommenen Gifts und liefern damit Hinweise auf den Giftpilz (im Todesfall auf eine mögliche „Mordwaffe“).[22]

Generell werden die Möglichkeiten zur Nutzung von Pilzen als biologische Waffe geprüft. Viele Vertreter sind dazu in der Lage, Toxine zu bilden. Einige Vertreter können auch im großen Maßstab produziert werden. Es existiert zwar kein Pilz, der so giftig ist wie das Botulinus-Toxin von *Clostridium botulinum* oder der so gefährlich ist wie eine Atomwaffe. Aber durch die einfache Verbreitung und die leichte Umwandelbarkeit der Toxine in eine Waffe geht eine gewisse Gefahr auch von den Pilzen aus.[47]

Hawksworth und Wiltshire fassten 2010 zusammen, wann ein Einsatz der Mykologie in Betracht gezogen werden sollte [22]:

1. Als integraler Bestandteil der ökologischen Bewertung an Tatorten, vor allem im Außenbereich.
2. Wenn der Todeszeitpunkt oder der Zeitpunkt der Ablage des Leichnams unsicher ist und Pilzkolonien auf den menschlichen Überresten, der Kleidung oder dazugehörigen Artikel vorzufinden sind. Dies ist besonders wichtig, wenn die Entomologie nicht geeignet ist, aber Pilze vorhanden sind.
3. Wenn bei der Spurensicherung Pilzsporen gefunden werden.
4. Wenn Pilze unter den Habseligkeiten eines Verdächtigen, im Darminhalt oder in Nahrungsmitteln und Getränken gefunden werden, die mit Todes- oder Vergiftungsfällen im Zusammenhang stehen.
5. Wenn Pilze in Massenkultur gezüchtet werden (beispielsweise in Flüssigmedien in großen Behältern).

2009 veröffentlichten Sidrim et al. [57] eine Arbeit, in der sie untersucht hatten, welche Pilzarten sich in den verschiedenen Stadien der Leichenzersetzung auf dem Körper ansiedeln. Dazu wurden zwischen Januar und Dezember 2007 von verschiedenen Leichen zu unterschiedlichen Zeitpunkten Proben von dem Kopfhaut, der Haut, der Schleimhaut (Mund, Mastdarm, Vagina, unter der Vorhaut) und den Lungen genommen. Ebenso erfolgte eine Probenahme von der Umgebung der Leichen (Knochen, Kleidung, Erdboden und Sarg).

Die Proben wurden vor Ort makroskopisch untersucht. Von jeder Stelle wurden jeweils zwei Proben entnommen. Die erste wurde direkt untersucht, die zweite wurde im Labor kultiviert und erst danach erfolgte die Untersuchung. Diese Untersuchungen bestanden aus den makroskopischen Beobachtungen, einer mikroskopischen Betrachtung und biochemischen Analysen, die vom Medical Mycology Center (CEMM) der Universität in Ceará, Brasilien, durchgeführt wurden.

Die Zusammenfassungen aller gefundenen Pilzarten sowohl direkt von den Leichnamen als auch von der Umgebung der Leichen sind in Tabelle 9 und Tabelle 10 zu finden.

**Tabelle 9: Pilzarten, isoliert von Haaren, Haut, Schleimhaut und Lungen im gasgeblähten Stadium, Stadium der Fäulnis und skelettierter Stadium [57]**

	Stadium der Zersetzung		
	gasgeblähtes Stadium (n = 143)	Fäulnis (n = 12)	Skelettierung (n = 26)
Haare (n=64)	<i>Aspergillus flavus</i> (17) <i>Aspergillus niger</i> (14) <i>Penicillium rugulosum</i> (9) <i>Penicillium piceum</i> (2) <i>Candida albicans</i> (4) <i>Candida parapsilosis</i> (5) <i>Trichosporon sp.</i> (4) <i>Acremonium sp.</i> (1) <i>Mucor spp.</i> (2) <i>Geotrichum sp.</i> (1)	<i>A. flavus</i> (1) <i>A. niger</i> (1) <i>Penicillium sp.</i> (1) <i>Acremonium sp.</i> (1)	<i>A. flavus</i> (5) <i>A. niger</i> (7) <i>Penicillium sp.</i> (4) <i>P. rugulosum</i> (3) <i>P. piceum</i> (1) <i>Trichosporon sp.</i> (1) <i>Mucor sp.</i> (4) <i>Trichoderma sp.</i> (1)
Haut (n=34)	<i>A. flavus</i> (7) <i>A. niger</i> (3) <i>P. rugulosum</i> (3) <i>P. piceum</i> (1) <i>C. albicans</i> (5) <i>C. parapsilosis</i> (5) <i>Mucor spp.</i> (3)	<i>A. flavus</i> (1) <i>C. albicans</i> (1)	
Schleim- haut (n=102)	<i>A. flavus</i> (11) <i>A. niger</i> (5) <i>P. rugulosum</i> (3) <i>P. piceum</i> (2) <i>C. albicans</i> (10) <i>C. parapsilosis</i> (6) <i>Trichosporon sp.</i> (1) <i>Acremonium sp.</i> (1) <i>Mucor sp.</i> (1) <i>Fusarium sp.</i> (1)	<i>P. piceum</i> (1) <i>C. albicans</i> (2) <i>Candida guilliermondii</i> (2)	
Lunge (n=34)	<i>A. flavus</i> (5) <i>A. niger</i> (3) <i>Penicillium sp.</i> (1) <i>P. rugulosum</i> (1) <i>C. albicans</i> (2) <i>C. parapsilosis</i> (3) <i>Trichoderma sp.</i> (1)	<i>C. albicans</i> (1)	

n ist die Anzahl der genommenen Proben; in Klammern ist die Anzahl der Funde angegeben



**Tabelle 10: Pilzarten, isoliert von der Umgebung des Leichnams (Knochen, Kleidung, Erdboden, Särge) im gasgeblähten Stadium, Stadium der Fäulnis und skelettieren Stadium [57]**

	Stadium der Zersetzung		
	gasgeblähtes Stadium (n = 0)	Fäulnis (n = 0)	Skelettierung (n = 67)
Knochen	-	-	<i>Aspergillus flavus</i> (6) <i>Aspergillus niger</i> (3) <i>Penicillium spp.</i> (10) <i>Penicillium verruculosum</i> (1) <i>Mucor spp.</i> (3)
Kleidung	-	-	<i>A. flavus</i> (5) <i>A. niger</i> (7) <i>Penicillium spp.</i> (9) <i>Penicillium piceum</i> (1) <i>Mucor spp.</i> (1) <i>Acremonium sp.</i> (1)
Erdboden	-	-	<i>A. flavus</i> (4) <i>A. niger</i> (3) <i>Penicillium spp.</i> (4) <i>P. piceum</i> (1) <i>Trichoporon sp.</i> (1) <i>Mucor spp.</i> (3)
Särge	-	-	<i>Candida albicans</i> (1)

n ist die Anzahl der genommenen Proben; in Klammern ist die Anzahl der Funde angegeben

Die (prokaryotischen) Bakterienzellen teilen sich schneller als die (eukaryotischen) Pilzzellen. Daher waren die direkten mykologischen Untersuchung in allen Phasen (gasgeblähtes Stadium, Fäulnis und Skelettierung) nicht ergiebig. Umso wichtiger waren ergänzende Laborverfahren, um die Pilzarten zu identifizieren. Jedoch waren es wesentlich weniger Pilzarten als erwartet, sodass davon ausgegangen wurde, dass die eingesetzten Methoden nicht optimal geeignet waren und dahingehend Optimierungsbedarf besteht. Ebenso wurde vermutet, dass die schnellwachsenden Pilzgattungen *Aspergillus* und *Penicillium* die übrigen Gattungen in ihrem Wachstum behindert haben, wodurch diese am stärksten vertreten waren.

## **1.2.2 Prozesse nach dem Tod**

### **1.2.2.1 Leichenstadien**

Nach dem Tod durchläuft der menschliche Körper verschiedene Stadien des Verfalls. Die Veränderungen, die dabei passieren, werden in frühes und spätes postmortales Intervall unterschieden. Das postmortale Intervall (PMI) wird auch Leichenliegezeit genannt und bezeichnet den Zeitraum zwischen Todeszeitpunkt und dem Auffinden der Leiche.

Bei dem frühen postmortalen Intervall handelt es sich um die Zeitspanne zwischen Eintritt des Todes und dem Einsetzen erster Zersetzungserscheinungen. Abhängig von den Umgebungsbedingungen wie Temperatur und Luftfeuchtigkeit ist dieses Intervall etwa ein bis zwei Tage lang. Während dieser Zeit entspricht das äußere Erscheinungsbild der oder des Toten (weitestgehend) dem eines lebenden Körpers. [28]

Da in dieser frühen Phase noch keine Fäulnisveränderungen wahrnehmbar sind, ist es wichtig, nach den sicheren Zeichen des Todes zu suchen. Diese Zeichen sind:

- Feststellung des Hirntods

Für die abgeschlossene Hirntoddiagnostik muss das irreversible Erlöschen der Funktionen von Klein- und Großhirn sowie des Hirnstammes festgestellt werden. Dies kann nur durch zwei Ärzte unter stationären Bedingungen geschehen, die über mehrjährige Erfahrungen in der Behandlung schwerer Hirnschäden besitzen.

- Verletzungen, die mit dem Leben nicht vereinbar sind

Es handelt sich dabei um Verletzungen, die es dem Organismus unmöglich machen, seine Funktionen weiter fortzuführen, wie beispielsweise die Ab- oder Durchtrennung lebenswichtiger Organe wie Herz oder Hirn. Grobe Zerreißen oder Zerquetschungen von Kopf, Hals oder Rumpf zählen ebenfalls zu den sicheren Zeichen des Todes. Die Entfernung von Gliedmaßen ist kein Beweis für den Tod. Eine vollständige Verkohlung gilt ebenso als nicht mit dem Leben vereinbar.

- Totenstarre

Die Totenstarre wird auch als Rigor mortis bezeichnet. Dabei befindet sich die Muskulatur eines Menschen in einem Zustand, in dem sie ihre Dehnbarkeit verloren hat, weil die ATP-Synthese zum Erliegen kommt. Dies hat zur Folge, dass Gelenke eines Toten nicht mehr bewegt werden können. Sie tritt nach etwa zwei bis vier

Stunden am Kiefergelenk beginnend ein und stellt ein nützliches Werkzeug der Rechtsmediziner dar, um den Todeszeitpunkt zu bestimmen (siehe Abschnitt 1.2.2.2).

- Totenflecken

Totenflecke werden auch Livores oder Livor mortis genannt. Es handelt sich dabei um fleckige bis flächige Hautverfärbungen, die nach einem irreversiblen Stillstand des Herz-Kreislauf-Systems entstehen. Nach ca. 20-30 Minuten beginnen sie im Halsbereich. Durch die Schwerkraft sinkt das Blut nach unten in die Kapillarnetze ab und verbleibt an den tiefstgelegenen Körperpartien. Dadurch werden die betroffenen Hautareale dunkel verfärbt. Die Flecke können ca. 10-20 Stunden nach Todeseintritt zunächst noch weggedrückt werden. Da mit der Zeit Blutserum in das Gewebe abgegeben wird, wird das Blut dicker und lässt sich immer schlechter verlagern. Diese zeitabhängige Veränderung bei den Totenflecken ist wie die Totenstarre ein hilfreiches Werkzeug, mit dem der Todeszeitpunkt ermittelt werden kann (siehe Abschnitt 1.2.2.2).

Nur wenn mindestens eines dieser Zeichen vorzufinden ist, darf der Tod festgestellt werden. [28]

Durch das Erliegen der Blutzirkulation im Körper kommt es zu der sogenannten Leichenblässe, auch Pallor mortis genannt. Dieses Phänomen beginnt direkt nach dem Tod in den ersten Minuten.[1]

Während der frühen Phase sinkt die Körperkerntemperatur. Dieses Phänomen wird als Algor mortis oder auch Toten- bzw. Leichenkälte bezeichnet. Die Abnahme hängt von Parametern wie der Umgebungstemperatur, der Lage des Leichnams, der Bekleidung oder sonstige Bedeckung des Körpers, den Körperproportionen und den vorherrschenden Witterungsbedingungen ab. Es entwickelt sich ausgehend vom Körperkern ein Temperaturgefälle (Temperaturplateau) zur Körperoberfläche. Anschließend erfolgt eine kontinuierliche, exponentiell verlaufende (zum Ende hin abgeflachte) Abnahme der Körperkerntemperatur.

Auf das frühe postmortale Intervall folgt das späte postmortale Intervall. Es setzt mit dem Auftreten äußerlich erkennbarer Zersetzungserscheinungen ein. Während dieser Zeit durchläuft der Leichnam verschiedene Stufen der Zersetzung bis hin zum vollständigen Abbau der Körperbestandteile. Dabei kommt es unter anderem auch zur Bildung von sogenannten Leichengiften wie Putrescin oder Cadaverin, die bei der Zersetzung von

Proteinen gebildet werden.[12] Der Abbau der Körperbestandteile erfolgt durch die Prozesse der Autolyse und der Fäulnis.

Autolyse ist ein Prozess, bei dem organische Strukturen durch körpereigene Stoffe (z.B. durch Enzyme) zersetzt werden. Sie läuft ohne die Beteiligung von Mikroorganismen ab. Zur Autolyse gehören Prozesse wie die Andauung der Magenschleimhaut. Dadurch wird diese brüchig und der Mageninhalt kann in die Bauchhöhle austreten. Ebenso wird der Pankreas angedaut. Durch die zunehmende Aufhebung der Membranfunktionen steigt die Kaliumkonzentration und die Natrium- und Chloridkonzentrationen sinken. Zusätzlich sind ein Anstieg der Laktat-Konzentration und eine Senkung des pH-Wertes zu beobachten. Autolyse beginnt bereits im frühen postmortalen Intervall. Die Folgen werden jedoch erst später sichtbar. [13]

Bei der Fäulnis handelt es sich um meist anaerobe, hauptsächlich bakteriell ausgelöste Zersetzungsprozesse. Diese Prozesse gehen überwiegend mit der Entwicklung faulig riechender Gase einher. [37]

Ein Leichnam durchläuft sechs verschiedene Stadien der Fäulnis.[4] Das erste Stadium ist das frische Stadium, auch als beginnende Fäulnis bezeichnet. Erstes Zeichen hierbei ist eine Grünfärbung des rechten Unterbauchs an der Stelle, an der sich knapp unter der Haut der Dickdarm mit den sich schnell vermehrenden Bakterien befindet. Diese Grünfäulnis der Haut breitet sich bald auf dem gesamten Bauch aus. Anschließend ist das sogenannte Durchschlagen des Venennetzes zu beobachten, bei dem die Blutgefäße im Bereich der Brust, der Schultern und der Oberschenkel deutlich an der Hautoberfläche als grüne bis braune Netze sichtbar werden. [13]

In dem nun einsetzenden zweiten Stadium, dem gasgeblähten Stadium, entstehen organische Säuren (z.B. Propansäure und Milchsäure) sowie Gase (z.B. Methan, Schwefelwasserstoff und Ammoniak) durch den Abbau von Kohlenhydraten, Fetten und Eiweißen. Dadurch kommt es zu Hautverfärbungen und zu einer starken Geruchsentwicklung. Die sich bildenden Gase reichern sich im Inneren des Körpers an. Die massive Bildung der Fäulnisgase in allen Weichgeweben (Fäulnisgasemphysem) führt dazu, dass Gesicht, Bauch, weibliche Brüste, Penis und Skrotum stark auftreiben.[37] Durch den Gasdruck im Inneren tritt Fäulnisflüssigkeit aus den Körperöffnungen wie dem Mund, der Nase oder dem Anus aus.[4] Innere Organe wie beispielsweise die Leber werden mit Fäulnisgas durchsetzt. Es kommt so zur Bildung sogenannter „Schaumorgane“. Es entstehen zudem mit Fäulnisflüssigkeit gefüllte Fäulnisblasen. [13]

Das dritte Stadium ist der aktive Zerfall. Er ist durch einen massiven Verlust an Körpermasse gekennzeichnet. Die oberste Hautschicht löst sich ab, wodurch es zu einer Verschiebung der Haut kommt. Fingernägel und Haare lockern sich. Sie lassen sich dadurch leicht herausziehen.[4]

Im vierten Stadium, dem fortgeschrittenen Zerfall, kommt es im Gewebe durch die vorangegangene Gewebeerstörung (durch Fäulnis, Abfließen der Fäulnisflüssigkeit sowie eventuellen Tierfraß) zum vermehrten Kontakt mit Luftsauerstoff. Die Folge ist, dass sich die Lebensbedingungen für die anaeroben Fäulniserreger verschlechtern. Es siedeln sich zunehmend aerobe Bakterien sowie Pilze an. Damit geht der Körper in das fünfte Stadium über, die Austrocknung. Der Körper verliert vermehrt Flüssigkeit und wirkt nun nicht mehr feucht.[4]

Das letzte Stadium, das der verwesende Körper erreicht, ist die Skelettierung. Nach dieser Phase bleiben meist nur Knochen und Zähne zurück. Selten sind noch Haare oder getrocknete Gewebereste vorzufinden.

Neben den oben beschriebenen degenerativen Leichenerscheinungen existieren noch die konservierenden. Dazu zählen Vorgänge wie Mumifikation und Fettwachsbildung.

Als Mumifikation wird die natürliche Leichenkonservierung durch einen raschen Wasserentzug bezeichnet. Die fehlende Feuchtigkeit hemmt ein mikrobielles Wachstum oder verhindert ein solches vollständig. Dadurch kommen die Fäulnisprozesse zum Erliegen. Teilmumifikationen können bereits nach einer Woche vor allem an den Extremitäten möglich sein. Unter optimalen Bedingungen kann die Mumifikation bereits nach einem Monat vollständig abgeschlossen sein.[37]

Die Leiche wird in der Regel durch einen warmen Luftzug getrocknet. Die Oberfläche des Leichnams trocknet zuerst aus und wird lederartig-derb. Somit kann auch keine weitere Flüssigkeit aufgenommen werden.[37] Zusätzliche Sonneneinstrahlung beschleunigt den Prozess. Solche Mumien finden sich beispielsweise in Wüsten wie der Sahara.

Ein Körper kann nicht nur durch Hitze, sondern auch durch Kälte getrocknet werden.[13] Durch Gefriertrocknung können Leichen über lange Zeitabschnitte hinweg konserviert werden. Sie ist eine der effektivsten Prozesse der Mumifikation. Selbst Jahrtausende später finden sich noch gut erhaltene, durch Kälte mumifizierte Mammut-Kadaver. Populärstes Beispiel für die Kälte-Konservierung eines menschlichen Körpers ist der 1991 in den Ötztaler Alpen gefundene „Ötzi“, der in der Jungsteinzeit lebte und nach mehr als 5200

Jahren immer noch fast unversehrt und vollständig erhalten ist.[45] Nach der Bergung wurden erste wissenschaftliche Untersuchungen durch den Prähistoriker Konrad Spindler von der Universität Innsbruck durchgeführt. In diese Untersuchungen wurden auch Spezialisten aus den Gebieten der Anthropologie, Forensik und Pathologie mit einbezogen. Teilweise kommt es nur zu partiellen Mumifikationen. In den meisten Fällen befindet sich dann auf der Hautoberfläche ein starker Bewuchs durch Schimmelpilze.[13]



**Abbildung 13: Exhumierter mumifizierter Leichnam mit flächenhafter weißer Schimmelpilzbesiedlung der Gesichtshaut, nach sieben Monaten in einem Erdgrab [13]**

Zu Konservierungen kommt es auch bei der Lagerung der Leiche in einem Moor oder in Salz. Unter Sauerstoffabschluss und durch die Einwirkung von Humin- und Gerbsäuren bekommen die sogenannten Moorleichen eine lederartige, braune Oberfläche.[37] Die Salzleichen werden konserviert, weil das Wasser durch die hohen Salzkonzentrationen sehr schnell entzogen wird und die meisten Mikroorganismen unter diesen Bedingungen nicht überlebensfähig sind. Ein Beispiel dafür ist der „Mann im Salz“, der in einem Salzbergwerk der Kelten in Hallein bei Salzburg gefunden wurde.

Unter anaeroben und feuchten Bedingungen kann es zur Bildung von Fettwachs, auch als Leichenlipid oder Adipocire bezeichnet, kommen. Die Konservierung erfolgt durch Hydrierung ungesättigter Fettsäuren des Körpers (z.B. Ölsäure), die dabei in gesättigte Fettsäuren umgewandelt werden und durch Umwandlung des Körperfetts in eine fettig-schmierige bis kalkharte Masse. Diese wachsähnliche Fettschicht wirkt wie ein Schutzpanzer des Leichnams, der die Fäulnis verhindert.[37]

### 1.2.2.2 Leichenliegezeitbestimmung

Stirbt ein Mensch unter Zeugen, beispielsweise unter ärztlicher Aufsicht in einem Krankenhaus oder nach einem Autounfall in Anwesenheit eines Notarztes, ist die Feststellung des Todeszeitpunktes in der Regel kein Problem. Wird eine Leiche jedoch aufgefunden, ohne dass Zeugen zur Verfügung stehen, ist die Abschätzung der Todeszeit schwieriger.

Für die Bestimmung des postmortalen Intervalls stehen zahlreiche Parameter wie Totenflecken, Totenstarre oder Fäulniserscheinungen zur Verfügung. Eine Auswahl dieser Kriterien und die jeweiligen Zeitspannen, in denen sie auftreten, sind in Tabelle 11 zusammengefasst. Die Daten beziehen sich auf Ereignisse, die bei durchschnittlichen Umgebungsbedingungen stattfinden. In Einzelfällen müssen teils erhebliche Abweichungen von der Regel berücksichtigt werden.

**Tabelle 11: Kriterien für die rechtsmedizinische Beurteilung des postmortalen Intervalls; die Angabe der Zeit erfolgt in Stunden post mortem (hpm) bei durchschnittlichen, mitteleuropäischen Umgebungsbedingungen [13], [37]**

<b>Kriterium</b>	<b>Ungefähres postmortales Zeitintervall</b>
Totenflecke	Beginn ca. 20–30 Min. post mortem am Hals, konfluierend innerhalb von 30–120 min, komplett nach 6–12 hpm, wegdrückbar ca. 10–20 hpm
Umlagerbarkeit der Totenflecke	bis ca. 12–24 hpm, verbleiben nach ca. 6 hpm aber teilweise an der ursprünglichen Stelle (doppeltes Totenflecksystem)
Totenstarre	Beginn im Kiefergelenk nach ca. 2–4 hpm, komplett nach 6–8 hpm, bei Hitze beschleunigt, bei Kälte verzögert
Wiedereintritt der Totenstarre nach Brechen	erneute Totenstarre nach Brechen bis ca. 6–8 hpm
Lösung der Totenstarre	Beginn meist nach 2–3 Tagen, vollständig nach 3–5 Tagen, bei tiefer Umgebungstemperatur auch erst nach 2–3 Wochen (sehr starke Temperaturabhängigkeit)
Hornhauttrübung	offene Augen: nach ca. 45 min geschlossene Augen: nach ca. 24 h

<b>Kriterium</b>	<b>Ungefähres postmortales Zeitintervall</b>
Kaliumgehaltes in der Glaskörperflüssigkeit des Auges	kontinuierliche Zunahme nach Todeseintritt in den ersten 2–3 Tagen post mortem
Abnahme der Körperkerntemperatur	postmortales Temperaturplateau für ca. 2–3 hpm, danach Abnahme der Körperkerntemperatur um 0,5–1,5 °C/h (abhängig von Umgebungstemperatur, Lagerung, Bekleidung, Bedeckung, Körperproportionen und Witterungsbedingungen)
Grünfäulnis der Haut	in der Regel beginnend im rechten Unterbauch ab ca. 48–72 hpm, gesamte Bauchhaut nach ca. 1 Woche
Durchschlagen des Venennetzes	ab ca. 48 hpm
Augäpfel eingesunken	nach ca. 1 Woche
Fäulnisblasen Auftreiben des Leibes	nach ca. 2 Wochen
Lockerung von Haaren und Nägeln	nach ca. 3–4 Wochen
Fettwachsbildung (Adipocire)	im Wasser und bei Wärme unter anaeroben Bedingungen nach 3–5 Wochen im Erdgrab nach Monaten bis zu 1 Jahr
Skelettierung	im Erdgrab häufig erst nach 20–30 Jahren
Mumifizierung	gering nach 1 Woche möglich, teilweise nach Wochen, komplett nach Monaten; Haltbarkeit für lange Zeit (z. B. Gletschermumien)

Neben den in Tabelle 11 genannten Kriterien existieren noch weitere Möglichkeiten, den Todeszeitpunkt genauer einzugrenzen. In Einzelfällen kann der Mageninhalt aufschlussreich sein. Wenn der Zeitpunkt der letzten Nahrungsaufnahme bekannt ist, kann anhand der Füllmenge des Magens geschlossen werden, wann die Verdauungsprozesse zum Erliegen gekommen sind.



Bei einem Todeseintritt in der Nacht kann auch der Füllzustand der Harnblase Informationen liefern. Bei einer leeren Harnblase wird in der Regel ein Todeszeitpunkt in der ersten Nachthälfte angenommen.

Informationen darüber, wann die verstorbene Person zuletzt lebend gesehen wurde, den Briefkasten leerte oder vielleicht telefonierte, können der Leichenliegezeitbestimmung ebenso dienen wie bestimmte Gegenstände, die Verstorbene bei sich haben, z.B. Kassenzettel.

Da gerade während des späten postmortalen Intervalls eine Eingrenzung des Todeszeitpunktes schwer ist, wird zur zusätzlichen Präzisierung die forensische Entomologie, also die kriminalistische Insektenkunde, genutzt. Schon kurz nach Eintritt des Todes kommt es zur Besiedlung durch bestimmte Insektenarten.

Es werden nach Smith [58] vier verschiedenen Kategorien an Arthropoden unterschieden:

1. Nekrophage Arten:

Diese auch als Aasfresser bezeichneten Arten ernähren sich von totem Gewebe.

2. Räuber und Parasiten:

Sie ernähren sich von den nekrophagen Arten. Einige Vertreter dieser Kategorie ernähren sich anfangs von Leichengewebe und werden erst in späteren Stadien zu Räubern.

3. Omnivore Arten:

Diese allesfressenden Arten ernähren sich sowohl von der Leiche als auch von den auf der Leiche befindlichen Insekten. Dazu gehören Wespen, Ameisen und einige Käfer.

4. Sonstige Arten:

Es handelt sich dabei um Besucher des Leichnams, die diesen als Erweiterung ihres Lebensraumes nutzen. Dazu zählen unter anderem Springschwänze und Spinnen.

Von Interesse für die Bestimmung des postmortalen Intervalls sind dabei die Insektenarten, die sich von den Leichen ernähren, aber auch die Arten, die sich von diesen saprobiontischen Arten ernähren. Größtenteils handelt es sich um einige Fliegen- und Käferfamilien. Unter optimalen Bedingungen wie warmen Temperaturen, Tageslicht und gute Zugänglichkeit zur Leiche, dauert es nur ein bis zwei Stunden, bis die Insekten den Leichnam als Brutstätte annehmen. Die Insekten suchen den Leichnam so lange ab, bis sie

eine geeignete Stelle für ihre Eiablage gefunden haben. Häufig nutzen sie dafür die Körperöffnungen wie Mund, Nase, Augen und Ohren.




Oft sind einige Schmeißfliegenarten die ersten Besiedler von Leichen. Nach Ablage ihrer Eierpakete dauert es bei guten Bedingungen nur 24 Stunden, bis die ersten Larven (Maden) schlüpfen. Sie entwickeln sich meist in drei, durch Häutungen voneinander abgetrennten Stadien. Haben die Maden genügend gefressen, ziehen sie sich an einen geschützten Ort zurück, wo sie sich verpuppen können. Die Puppe entsteht durch Chitineinlagerung in die Haut der Larven, die dadurch verhärtet. In der Puppe findet dann die Umwandlung zum adulten Tier statt. Unter optimalen Bedingungen dauert ein kompletter Zyklus mindestens 21 Tage.[1]

Ist der oben beschriebene Zyklus vom abgelegten Eierpaket bis zum geschlüpften adulten Insekt einmal vollständig durchlaufen, ist es nicht mehr möglich, eine genaue Berechnung der Leichenliegezeit durchzuführen. Es können keine Aussagen mehr getroffen werden, wann die ersten Insekten geschlüpft sind und wie viele neue Zyklen bereits gestartet wurden. Daher ist es wichtig, möglichst viele Insekten auf dem Leichnam zu untersuchen, da sich verschiedene Arten zu unterschiedlichen Zeitpunkten während der Zersetzung auf der Leiche ansiedeln. In Tabelle 12 sind die wichtigsten Insekten und ihre bevorzugten Leichenstadien aufgezeigt.

**Tabelle 12: Abfolge adulter Arthropoden auf menschlichen Leichen während der verschiedenen Fäulnisstadien; nach Amendt et al. [1]**

Insektenfamilie	Stadien der Zersetzung *			
	frisch	aufgebläht	verwest	trocken
Calliphoridae (Schmeißfliege)				
Muscidae (Echte Fliege)				
Silphidae (Aaskäfer)				
Sarcophagidae (Fleischfliege)				
Histeridae (Stutzkäfer)				
Staphylinidae (Kurzflügler)				
Nitidulidae (Glanzkäfer)				
Cleridae (Buntkäfer)				
Dermistidae (Speckkäfer)				
Scarabaeidae (Blatthornkäfer)				

\*Für jedes Stadium der Zersetzung wurde in der Tabelle die gleiche Spaltenbreite gewählt.

 geringe Anzahl an Individuen  
 mittelmäßige Anzahl an Individuen  
 große Anzahl an Individuen

## **2 Entomologie und Mykologie – Parallelen und Unterschiede**

Im China des 13. Jahrhundert ereignete sich der älteste überlieferte Kriminalfall, der mithilfe von Insekten aufgeklärt werden konnte. Am Rande eines Reisfeldes wurde die Leiche eines Mannes gefunden. Er wurde mit einer Sichel ermordet. Da nichts gestohlen wurde, ging der Untersuchungsbeamte davon aus, dass er von einem der Dorfbewohner getötet wurde. Er wies alle Einwohner an, sämtliche Sicheln auf den Marktplatz zu bringen. An diesem heißen Tag sammelten sich Insekten um eine einzelne Sichel. Der Beamte sah dies als Beweis dafür, dass es sich dabei um die Tatwaffe handelte. Daraufhin gestand der Besitzer der Sichel den Mord.[41]

Seit diesem ersten Einsatz der Entomologie wurde intensiv zu der Thematik geforscht. [6], [10], [52]

Die wichtigste Frage, die durch die Entomologie beantwortet werden soll, ist die nach dem Todeszeitpunkt. Durch zeitlich genau bekannte Abläufe der Entwicklung der Insekten vom Ei zur Larve und weiter zum adulten Tier wird das postmortale Intervall errechnet.

Wichtigster Einflussfaktor bei der Entwicklung der Insekten ist die Temperatur. Die Umgebungstemperatur beeinflusst die Körpertemperatur der Insekten und deren Stoffwechselleistung. Je höher die Umgebungstemperatur, desto schneller entwickeln sich die Insekten. Nach unten hin existiert eine Grenze. Wird diese Grenze unterschritten, sterben die Tiere ab. In Tabelle 13 sind diese Grenzen für einige Fliegenarten zusammengefasst.

**Tabelle 13: Niedrigste Temperaturen, bei denen die Larven ausgewählter Fliegenarten überlebensfähig sind [39]**

<b>Fliegenart</b>	<b>Niedrigster Schwellwert</b>
Boettcherisca septentrionalis	7,8°C
Calliphora vicina	2,0°C
Calliphora vomitoria	3,0°C
Chrysomya albiceps	10,2°C
Lucilia sericata	9,0°C
Phormia regina	11,4°C
Piophilila foveolata	6,4°C
Protophormia terraenovae	7,8°C
Muscina assimilis	7,9°C
Muscina stabulans	7,2°C

Während die Entomologie recht gut erforscht ist, ist die Mykologie, speziell die forensische Mykologie, noch weitestgehend unerforscht.

1976 berichtete Naohiko Sagara über die Pilzgattung *Hebeloma*, deren Fruchtkörper Grabstellen markieren.[51] Im August 1968 fand Sagara große Fruchtkörper von *Hebeloma vinosophyllum* in einem Wald nahe Kyoto auf einer kleinen Fläche von 1500 cm<sup>2</sup> (entspricht 0,15 m<sup>2</sup>). Der Waldboden wirkte unberührt. In einer Tiefe von weniger als 10 cm befanden sich die Überreste eines Hunde-Kadavers. Im Oktober 1975 wurde ein einzelnes gut entwickeltes Exemplar der Spezies entdeckt. In den oberen 20 cm des Bodens waren Katzenknochen zu finden. Nach Entfernung der Knochen tauchte 3 Wochen später ein neuer Fruchtkörper an dieser Stelle auf. Auch noch im nächsten Jahr waren verschiedene Fruchtkörper dort zu finden. Andere Berichte zu diesem Pilz folgten, wie beispielsweise der Bericht von Fukihara et al., bei dem die Spezies nach der Zersetzung eines Krähen-Kadavers gefunden wurde.[16] *Hebeloma vinosophyllum* wurde zuvor 1965 durch Hongo beschrieben.[84] Es handelt sich dabei um einen sogenannten Ammonium-Pilz. Ammonium-Pilze benötigen für ihr Wachstum eine sehr hohe Konzentration an Stickstoff im Boden. Durch Fäulnis eines Kadavers werden zum Teil große Mengen Stickstoff in die umgebende Erde abgegeben.[60] Etwa drei bis acht Monate danach entwickeln sich die ersten Fruchtkörper. Die Pilze sind über eine Dauer von etwa ein bis zwei Jahre vorhanden.



Abbildung 14: Aussehen von *Hebeloma vinosophyllum* [25]

Auch andere Arten dieser Gattung wie *Hebeloma aminophilum*, *Hebeloma spoliatum*, *Hebeloma syrjense* und *Hebeloma radicosum* weisen auf Grabstellen hin [3], [20]. Ammonium-Pilze im Allgemeinen werden in Frühphasen- und Spätphasenpilze unterteilt. Die frühen Pilze wachsen ein bis zehn Monate, nachdem der Boden mit Stickstoff angereichert wurde. Spätphasenpilze finden sich ein bis vier Jahre nach einem solchen Ereignis.[62] Für den Einsatz in der forensischen Wissenschaft ist es notwendig zu wissen, dass Ammonium-Pilze nicht direkt auf einem Leichnam wachsen, sondern auf bzw. in der umliegenden Erde. Die Entstehung solcher Fruchtkörper ist neben der Temperatur und der Feuchtigkeit auch von anderen Faktoren abhängig. Dazu zählen die Form, in der der Stickstoff im Boden vorliegt (z.B. in Ammoniak oder proteingebunden), die Größe des Kadavers und die daraus resultierende Menge an Stoffen (z.B. Stickstoff, Kalium und organische Säuren), die in den Boden abgegeben werden. Auch die Tiefe, in der der Kadaver begraben liegt und die allgemeine Zusammensetzung der Erde beeinflussen das Pilzwachstum.

Anders als die Insekten in der forensischen Entomologie erlauben diese Pilze keine direkten Rückschlüsse auf das postmortale Intervall, sondern bieten nur die Möglichkeit zur Eingrenzung des postburialen Intervalls (PBI), also den Zeitraum vom Begräbnis bis zum Auffinden des Leichnams.[20] Indirekt können damit auch Rückschlüsse auf die minimale Leichenliegezeit gezogen werden.

Schimmelpilze sind im Gegensatz zu den Ammonium-Pilzen und ähnlich wie die Insekten in der Lage, einen Leichnam direkt zu besiedeln.[13] Sie stehen spätestens seit einem Fallbericht von 2006 in dem Verdacht, dass sie für die Forensik ein nützliches Werkzeug

darstellen könnten.[24] Hitosugi et al. beschreiben darin den tödlichen Sturz eines 71-jährigen Japaners in einen sechs Meter tiefen Brunnen in seinem Garten. Am Boden dieses Brunnens herrschten konstant Temperaturen von 12-13°C und eine Luftfeuchtigkeit von beinahe 100%. Vor allem die durchgängig niedrigen Temperaturen und das fehlende Sonnenlicht waren die Ursache für die fehlende Besiedlung durch Insekten. Somit konnten sie nicht zur Hilfe genommen werden, um den Todeszeitpunkt des Mannes einzugrenzen. Es befanden sich allerdings weiße Schimmelpilzkolonien auf dem Kopf des Opfers.



**Abbildung 15: Leichnam eines 71-jährigen Mannes, der mit weißen Pilzkolonien besiedelt ist [24]**

Sie wurden als *Penicillium* sp. und *Aspergillus terreus* identifiziert, die im Allgemeinen nach drei bis sieben Tagen Kolonien bilden. Das postmortale Intervall wurde dann anhand von Kriterien wie dem äußeren Erscheinungsbild und dem Stadium der Zersetzung ermittelt. Auch das Wachstum der Pilze spielte dabei eine Rolle. Der Mann wurde letztmalig 12 Tage vor Auffinden der Leiche gesehen. Aus den gewonnenen Informationen wurde ermittelt, dass der Mann seit etwa 10 Tagen tot war.

In einem weiteren Bericht von van de Voorde und Van Dijck aus dem Jahr 1982 wurde erstmals versucht, das postmortale Intervall mittels Mykologie zu bestimmen.[88] Als im Januar 1980 die Leiche einer 57-jährigen Frau gefunden wurde, wurden die Pilzmyzelien, die auf dem Augenlid und auf der Leistenfalte wuchsen, als Probe entnommen. Auf drei verschiedenen Nährmedien, die bei konstanten 12°C kultiviert wurden, sollte das Myzelwachstum simuliert werden. Dabei wurde ein Intervall von 11 bis maximal 23 Tage ermittelt. Tatsächlich betrug die Leichenliegezeit 18 Tage. Bereits in dieser Veröffentlichung wurde auf die Grenzen der Mykologie hingewiesen. So müssen die Umgebungstemperaturen genau bekannt sein und der Todeszeitpunkt sollte nicht zu weit zurückliegen.

Pilze besiedeln Leichen nicht so schnell wie Insekten. Schmeißfliegen sind bereits nach wenigen Stunden auf Leichnamen vorzufinden, Schimmelpilze dagegen erst nach einigen Tagen. Aus diesem Grund wird für die kriminaltechnischen und kriminalbiologischen Untersuchungen an Leichen mehr auf das Wissen über Insekten und deren Entwicklungsstadien zurückgegriffen. Jedoch haben sich Schimmelpilze an solche Bedingungen angepasst, unter denen sich saprobiotische Insekten nicht vermehren oder überhaupt nicht überleben können (z.B. Dunkelheit und niedrige Temperaturen). Sie sind nicht immer für die Forensik nutzbar, liefern aber wertvolle Informationen in speziellen Fällen, z.B. in Wintermonaten.

Insektenarten treten, wie bereits in Abschnitt 1.2.2.2 beschrieben, in einer typischen zeitlichen Abfolge an einem Standort auf. Diese Abfolge wird als Artensukzession bezeichnet. Sie ist in der forensischen Entomologie von großem Nutzen, da es bei der Besiedlung durch verschiedene Arten ständig zu Überschneidungen kommt. Diese Überschneidungen liefern eine präzisere Eingrenzung der Leichenliegezeit.

Auch bei Pilzen wurde eine Sukzession bereits beobachtet. Verschiedene Studien haben sich bereits mit der Abfolge von Pilzen bei der Zersetzung pflanzlichen Materials beschäftigt. [15], [34], [45] Dies legt die Vermutung nahe, dass bei der Zersetzung von tierischem Gewebe ebenfalls eine solche Sukzession vorzufinden ist. An dieser Stelle können noch Forschungen angesetzt werden, durch die die Mykologie in Zukunft mehr an Bedeutung für die Forensik gewinnen kann.

Insekten besitzen verschiedene Entwicklungsstadien, die einen Einsatz in der forensischen Wissenschaft ermöglichen. Auch bei Pilzen sind verschiedene Formen zu beobachten. Als erstes erfolgt stets die Bildung von Hyphenmyzel. Erst danach kommt es zu einer Sporulation. Der Prozess der geschlechtlichen Fortpflanzung bei Pilzen erfordert mehr Energie und Zeit als die ungeschlechtliche. Er tritt daher erst später auf. Teilweise sind in späteren Stadien des Pilzwachstums keine Hyphen mehr vorzufinden. Es existieren dann nur noch die überdauerungsfähigen Sporen. Forschungen könnten auch hier ansetzen, um die genauen zeitlichen Abläufe dieser Stadien zu ermitteln. In dieser Arbeit sollen dafür Grundlagen geschaffen werden. Es soll ein Bestimmungsschlüssel für Schimmelpilze gefunden werden. In praktischen Versuchen soll eine Besiedlung durch diese Organismen erreicht werden und der Bestimmungsschlüssel darauf angewendet werden. Anschließend sollen Zielstellungen für weiterführende Arbeiten abgeleitet werden.



## 3 Material und Methoden

### 3.1 Geräte

Gerät	Bezeichnung	Hersteller
Hygrometer mit Thermometer	Thermo-/Hygrometer TH35-A	Hama
Kamera	Full HD-HDMI-Mikroskopkamera 16:9 + SD-Karte DiLi 2052 <a href="http://www.loetdampf.de/kameras.html">http://www.loetdampf.de/kameras.html</a>	Distelkamp-Electronic
Mikroskop	Di-Li Labor-, Biologie-, Medizinmikroskop Di-Li 1027-HDMI mit 8-Zoll-Monitor <a href="http://www.di-li.eu/biologiemikroskop.html">http://www.di-li.eu/biologiemikroskop.html</a>	Distelkamp-Electronic
Objektträger	Objektträger	VEB Spiegelwerk Wilsdruff



Abbildung 16: Verwendetes digitales Lichtmikroskop

### 3.2 Tiermodell

Dr. William M. Bass gründete 1987 das Forensic Anthropology Center in Knoxville (Tennessee, USA), welches heute zu den führenden Institutionen auf dem Gebiet der forensischen Anthropologie gehört. Auf dem Gelände dieser Einrichtung, das umgangssprachlich auch als „Bodyfarm“ bezeichnet wird, werden an menschlichen Körpern Untersuchungen für Forschung, Lehre und staatliche Behörden durchgeführt. Erstmals haben Wissenschaftler somit die Möglichkeit, Studien über Verwesungsprozesse in einer Art Freiluftlabor unter natürlichen Bedingungen durchzuführen. Auf dem Gelände liegen regelmäßig 40 Leichen in unterschiedlichen Verwesungsstadien. Es handelt sich um freiwillige Körperspenden, an denen untersucht werden kann, welchen Einfluss zum einen die Umweltbedingungen wie Temperatur oder Luftfeuchtigkeit und zum anderen Geschlecht, Alter, Todesart oder auch die Lagerung auf die Verwesungsgeschwindigkeit haben. [83]

Nicht immer stehen menschliche Körper für wissenschaftliche Fragestellungen zur Verfügung. Oftmals gibt es vor allem viele ethische und rechtliche Bedenken um den Einsatz menschlicher Leichen für Forschungszwecke. Um diese Hürden zu umgehen, werden die Untersuchungen anhand von Tiermodellen durchgeführt.

Als Ersatz für menschliches Gewebe kommen Schwein (*Sus scrofa*), Rind (*Bos Taurus*) und Schaf (*Ovis aries*) zum Einsatz. Untersuchungen von Stokes et al. aus dem Jahr 2013 haben das Verhalten dieser drei Analoga mit dem vom Menschen während der Verwesung miteinander verglichen. [60] Es wurden dabei verschiedene Daten gesammelt, beispielsweise über den prozentualen Verlust an Körpermasse, die pH-Veränderungen des Bodens um das verwesende Gewebe oder die Anreicherung des Bodens mit Kalium oder Stickstoff. Alle drei Modelle hatten Ähnlichkeiten mit der Zersetzungsdynamik des Menschen. Dabei wurde festgestellt, dass bezüglich der gemessenen Parameter das Gewebe des Schafes die größte Ähnlichkeit aufwies. Aber keines der Modelle kann eine exakte Vorhersage über die Zersetzung des menschlichen Gewebes liefern.

Trotz dieser Ergebnisse sind nicht Schafe, sondern Schweine die am weitesten verbreiteten menschlichen Analoga, die in der Forensik eingesetzt werden. Sie wurden bereits umfangreich in entomologischen Studien [3], [10], [18] verwendet. Zum Einsatz kamen sie auch bereits für thanatochemischen [9] und taphonomischen [27] Untersuchungen.

Für die Versuche unbedeutend war, dass Schweine im Verhältnis zu ihrer Körperlänge kürzere Gliedmaßen haben als Menschen. Auch in der Knochenstruktur existieren Unterschiede [20]. Aber für Experimente, bei denen es um die Zersetzung des Weichteilgewebes geht, spielt die Knochenstruktur keine Rolle. Ebenso war es nicht hinderlich für die Versuche, dass die Tiere aufgrund ihrer Anatomie (ihrer Anpassung an den vierbeinigen Gang) nur seitlich gelagert werden können.

Schweine sind als Ersatz für menschliches Gewebe gut geeignet, weil ihre Körpermasse, Hautstruktur und auch das Fett-zu-Muskel-Verhältnis dem Menschen ähnlich sind.[10], [55] Zudem sind sie im Vergleich zu Rindern und Schafen nur gering behaart. Damit gibt es eine weitere Übereinstimmung mit menschlichem Gewebe bzw. Haut.

Die oben genannten Ähnlichkeiten waren schließlich der ausschlaggebende Punkt dafür, dass in den beiden Versuchen, die für diese Arbeit durchgeführt wurden, Schweinefleisch zum Einsatz kam.

### **3.3 Kultivierungsversuche**

Für die vorliegende Arbeit wurden zwei Versuche unter unterschiedlichen Bedingungen durchgeführt.



**Abbildung 17: Versuchsaufbau des ersten Versuchs; zu sehen ist die Abdeckung mit den Luftschlitzen, welche gleichzeitig auch der Verdunklung dient**

Im ersten Versuch wurde ein Eisbein auf dem Dach von Haus 8 der Hochschule Mittweida ausgelegt. Die Entscheidung fiel aus verschiedenen Gründen auf diesen Platz. Ein

wichtiger Grund war die Unzugänglichkeit für Fressfeinde. Tieren wie beispielsweise Hunden ist es nicht möglich, an das Fleisch zu gelangen, dieses zu fressen oder fortzutragen. Zudem ist dieser Ort auch für Menschen schwer zugänglich. Damit soll verhindert werden, dass eine andere Person das Experiment stören kann. Zusätzlich wird das Risiko minimiert, dass Personen toxischen Substanzen oder möglichen allergieauslösenden Sporen ausgesetzt werden.

Die schlechte Zugänglichkeit gilt allerdings nur für Räuber. Für Insekten ist dieser Platz frei zugänglich. Das Schweinefleisch wurde abgedeckt. So sollte eine Besiedlung durch die in Abschnitt 1.2.2.3 beschriebenen Insekten verhindert werden, die eine Ansiedlung von Schimmelpilzen erschweren.

Während einer guten Wetterlage herrschen warme Temperaturen auf dem Dach. Der Dachbelag speichert die Wärme der Sonne und gibt diese auch noch an kühleren Tagen ab, sodass selbst bei schlechterem Wetter die Temperatur in der Nähe des Versuchsaufbaus hoch ist. Um das Experiment vor der direkten Sonneneinstrahlung zu schützen, um Einflüsse des Lichts auf die mögliche Pilzentwicklung zu verhindern, wird die Abdeckung noch zusätzlich abgedunkelt. Zudem erfolgte eine Fixierung der Abdeckung, damit diese nicht durch Wind oder Regen davongetragen werden kann.

Im zweiten Versuch wurde ein Eisbein im Keller eines Mehrfamilienhauses ausgelegt. Dieser Platz wurde vor allem wegen seiner konstanten äußeren Bedingungen ausgewählt. In diesem Keller herrschen durchgängig Temperaturen zwischen 10 und 15°C. Die Luftfeuchtigkeit liegt zwischen 75 und 90%. Ebenso wie im ersten Versuch ist dieser Platz unzugänglich für Fressfeinde. Andere Menschen, die nicht an dem Experiment beteiligt sind, können nicht in die Nähe des Versuchs gelangen. Auch in diesem Versuch wird das ausgelegte Fleisch durch eine Abdeckung vor Insektenbefall geschützt. Eine Verdunklung ist in diesem Fall nicht notwendig, weil in den Keller kaum Sonnenlicht einfällt. Eine Fixierung der Abdeckung ist in diesem Fall ebenfalls nicht nötig, da der Versuch keiner Witterung ausgesetzt ist.



**Abbildung 18: Versuchsaufbau des zweiten Versuchs; zu sehen ist die Abdeckung über den Fleischstücken**

## **3.4 Mikroskopie**

### **3.4.1 Herstellung der mikroskopischen Präparate**

Für die Präparation der Proben werden üblicherweise mit einer sterilen Pinzette ausreichende Mengen an Pilzzellen entnommen und auf Malz-Agar oder Maismehl-Agar kultiviert. Ist bekannt, dass es sich bei den zu bestimmenden Pilzen um Vertreter der Gattungen *Aspergillus* oder *Penicillium* handelt, kommt häufig auch Czapek-Agar zum Einsatz.[30] Die Probenahme erfolgt dann nach Inkubation auf dem jeweiligen Nährmedium.

In den durchgeführten Versuchen erfolgten die Probenahmen jedoch direkt von den mit Schimmel befallenen Stellen des Schweinefleischs, da nicht nur die Bestimmung der Gattung, sondern auch das jeweilige Stadium, in dem sich der Schimmelpilz befand, untersucht werden sollte.

Ein Klebestreifen wird dazu leicht auf die peripheren Zonen der Schimmelpilzkolonien gedrückt. Das Probematerial bleibt am Klebestreifen haften. Für die Herstellung eines nativen Abdruckpräparats wird auf einen gereinigten Objektträger ein Tropfen Natriumchlorid-Lösung gegeben. (Für ein angefärbtes Präparat kann stattdessen ein Tropfen Lactophenolblau verwendet werden, das die Pilzelemente blau färbt.) Nun wird der Klebestreifen auf den Objektträger aufgebracht.

Anschließend können die Präparate bei den verschiedenen Vergrößerungen (hier: 500-fach und mit Immersionsöl 1000-fach) unter dem Mikroskop untersucht und bestimmt werden.

### 3.4.2 Mikroskopische Differenzierung

Nach der Anzucht und der ersten makroskopischen Inaugenscheinnahme, bei der die äußere Erscheinung der Kolonie (z.B. Farbe und Form) begutachtet wird, erfolgt die mikroskopische Untersuchung. Mithilfe der Mikroskopie lassen sich verschiedene Differenzierungsmerkmale wie die Septierung der Hyphen sowie die Form der Konidiophoren und der Konidien erkennen. Durch mikroskopische Methoden ist eine Identifizierung bis zur Gattung möglich. Abbildung 19 stellt ein Bestimmungsschema dar, das eine Differenzierung der zu untersuchenden Schimmelpilzproben erleichtert.

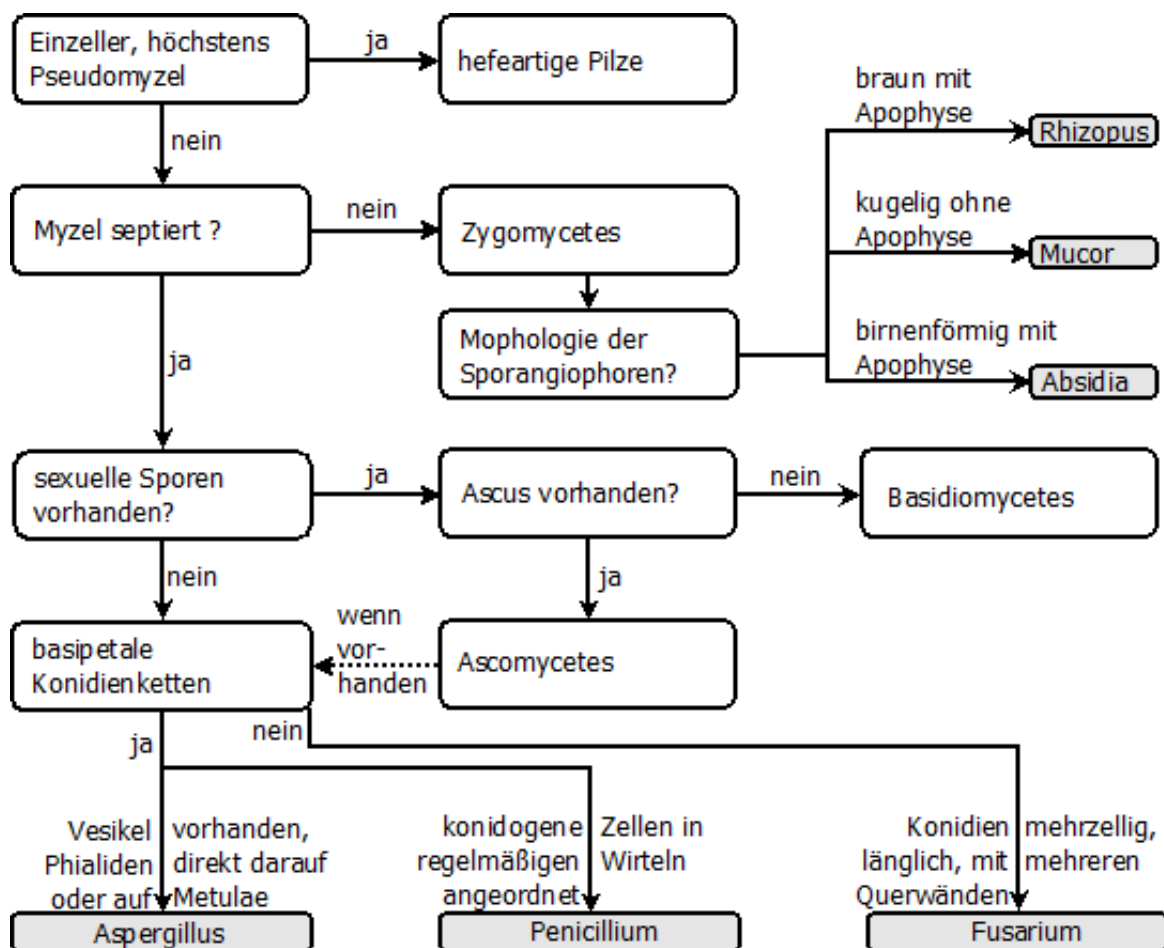


Abbildung 19: Übersicht über Differenzierungsmerkmale ausgewählter Schimmelpilzgattungen; nach [47]

Die Differenzierung der Art, vor allem innerhalb der Gattungen *Aspergillus*, *Penicillium* und *Fusarium*, kann sehr schwierig sein und erfordert zum Teil weitere chemotaxonomische und molekularbiologische Untersuchungen. [47]

Im Folgenden werden die mikroskopisch sichtbaren Merkmale der für die in forensischer Hinsicht bedeutendsten Schimmelpilzgattungen noch einmal genau zusammengetragen. Die Auswahl der Gattungen erfolgte anhand folgender Kriterien:

- Gattungen, die bereits als Leichenbesiedler bekannt sind:

Bei dem 2009 von Sirdrim et al. durchgeführten Untersuchungen wurde eine Übersicht zusammengestellt, in der leichenbesiedelnde Pilze aufgeführt sind. [57]

- Pilzgattungen, die saprobiotisch leben:

Diese Pilze leben vom Abbau des toten organischen Materials. Sie sind daher bei einer Besiedlung von Leichen zu erwarten.

- Pilze, deren natürliches Habitat der Mensch ist:

Diese Pilze können Haut und Schleimhäute besiedeln oder gedeihen im Inneren des menschlichen Körpers, z.B. im Magen-Darm-Trakt.

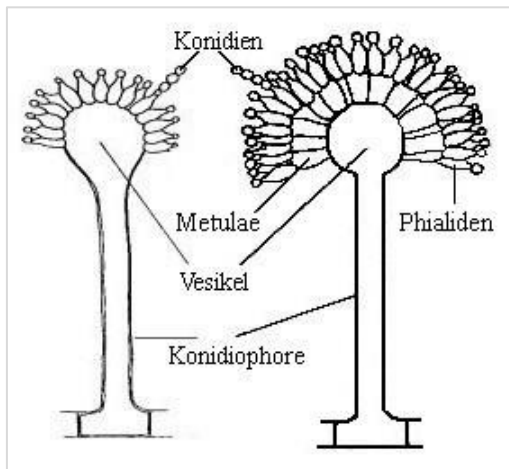
### **3.4.2.1 Aspergillus**

Die ca. 260 Arten der Gattung *Aspergillus* gehören zu den Ascomyceten. Sie werden auch als Gießkannenschimmel bezeichnet und treten ubiquitär auf. Die meisten unter ihnen leben terrestrisch als Saprophyten. Einige Arten leben als Phytoparasiten. Durch verschiedene Arten können Mykosen (Aspergillose) beim Menschen und bei Tieren ausgelöst werden. *Aspergillus*-Stämme besitzen eine große Vielfalt an Stoffwechselprodukten und sind in der Lage, Mykotoxine zu bilden.

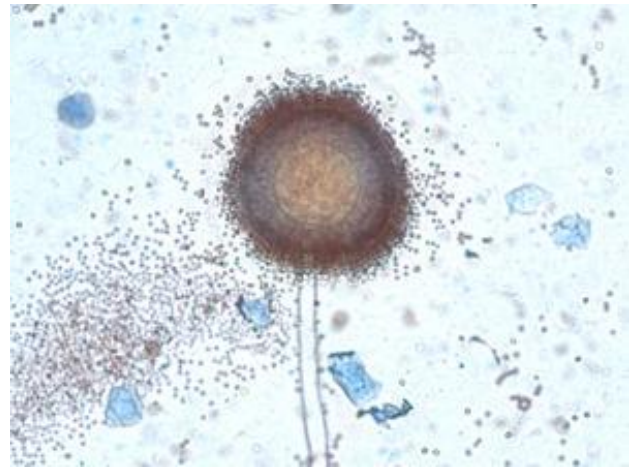
Die *Aspergillus*-Kolonien sind schnellwachsend. Bei einer Temperatur von 24-26°C erreichen sie in nur wenigen Tagen einen Koloniedurchmesser von etwa 2,5-5,0 cm. Die Kolonien sind je nach Art verschieden gefärbt. Sie können weiß, grün, gelb, gelb-braun, braun und schwarz sein.

Die mikroskopische Identifizierung erfolgt am einfachsten anhand der Anamorphen (Nebenfruchtform). Die einzelligen Konidien besitzen glatte oder raue Wände. Sie sind hyalin oder pigmentiert und entstehen in Ketten auf der palisadenartigen Schicht der Phialiden. Meist befinden sich zwischen dem Vesikel (apikale Anschwellung des Konidiophoren) und den Phialiden eine Schicht aus Zwischengliedern, den sogenannten

Metulae. Die Vesikel, Phialiden, Metulae (falls vorhanden) und die Sporen bilden die Konidienkopf.[33], [50], [69]



**Abbildung 20: Schematischer Aufbau der Gattung Aspergillus; verändert nach [76]**

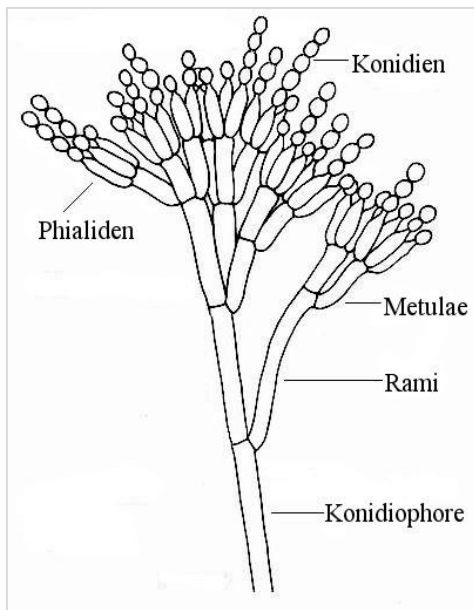


**Abbildung 21: Lichtmikroskopische Aufnahme von *Aspergillus niger* [74]**

### 3.4.2.2 Penicillium

Die ca. 235 Penicillium-Arten gehören wie die Gattung Aspergillus zu den Ascomyceten und werden auch als Pinselschimmel bezeichnet. Die Kolonien sind schnellwachsend und meistens grün, manchmal auch bräunlich-gelb bis weiß gefärbt. Ketten von einzelligen Konidien werden nacheinander von den spezialisierten Phialiden produziert. Die jüngste Konidie befindet sich bei diesen Ketten am basalen Ende, heißt an den Phialiden. Diese sind üblicherweise flaschenförmig und kommen einzeln oder in Gruppen vor oder sie befinden sich auf verzweigten Metulae, was dem Pilz sein namensgebendes pinselartiges Aussehen verleiht. Penicillium kann noch weiter verzweigt sein. Bei den Verzweigungsmustern wird zwischen einfachen (nicht verzweigte oder Monoverticillata), einstufig-verzweigten (Biverticillata-Symmetrica), zweistufig-verzweigten (Biverticillata-Asymmetrica) oder drei- bis mehr stufig verzweigten (Polyverticillata) Mustern unterschieden. Die hyalinen oder grünlichen Konidien können kugelförmig, ellipsenförmig, zylindrisch oder spindelförmig sein und besitzen glatte oder raue Wände. Einige Arten bilden Sklerotien. [33], [50], [71]





**Abbildung 22: Schematischer Aufbau der Gattung *Penicillium*; verändert nach [77]**

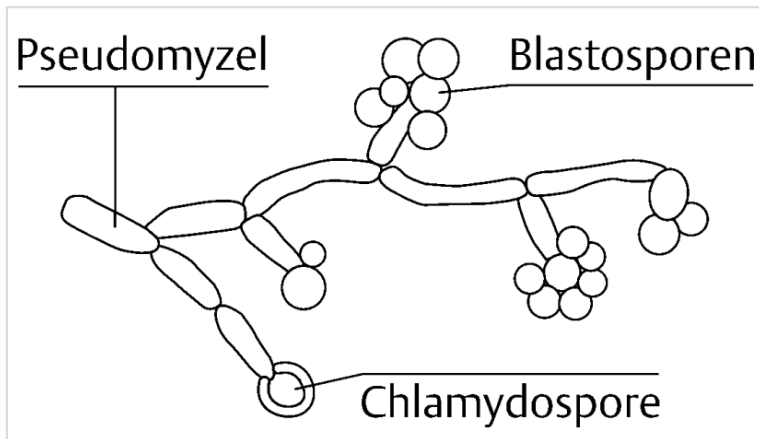


**Abbildung 23: Lichtmikroskopische Aufnahme von *Penicillium* sp. [73]**

### 3.4.2.3 *Candida*

Die Gattung *Candida* gehört wie die Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium* zu den Ascomyceten. Sie zählt zu den hefeartigen Pilzen. Sie bilden weiße Kolonien. Ihre Vermehrung erfolgt durch Sprossung. *Candida*-Pilze leben häufig saprobiotisch. Viele Arten können beim Menschen Dermatomykosen (häufig an der Mundschleimhaut) oder auch Systemmykosen auslösen (Candidose). Einige Vertreter dieser Gattung sind auch bei gesunden Menschen auf den Schleimhäuten und im Magen-Darm-Trakt nachweisbar.

Die Gattung *Candida* ist durch kugelförmige bis leicht gestreckte Zellen gekennzeichnet. *Candida*-Kolonien sind nicht pigmentiert. Die Vermehrung erfolgt rasch über mehrseitige Knospung. Die meisten *Candida* Spezies sind durch das Vorhandensein von Pseudohyphen gekennzeichnet. Die Fähigkeit zur Entwicklung von Arthrosporen fehlt komplett. [70]



**Abbildung 24:** Schematische Abbildung der Gattung *Candida*; verändert nach [25]



**Abbildung 25:** Lichtmikroskopische Aufnahme von *Candida albicans*; verändert nach [78]

#### 3.4.2.4 Acremonium

Die Gattung *Acremonium* gehört zu den Ascomyceten. Die Arten dieser Gattung kommen im Boden und im Wasser vor. Meist leben sie saprobiontisch. In Innenräumen besiedeln sie Tapeten und Holz. *Acremonium*-Arten können beim Menschen Dermato- und Systemmykosen auslösen. Ihre Sporen sind allergieauslösend. Sie sind zudem Antibiotikaproduzenten (Cephalosporine)

*Acremonium*-Kolonien sind in der Regel langsam wachsend. Sie sind anfangs feucht, werden dann mit dem Alter zunehmend pudrig, wildlederartig oder flockig. Die Pigmentierung kann zwischen weiß, grau, rosa und orange variieren. Hyphen dieser Gattung sind fein und hyalin. Die üblicherweise einzelligen Konidien sind hyalin oder pigmentiert. Sie sind kugelig bis zylindrisch. Meist sind die Konidien in schleimigen Köpfen an der Spitze der Phialiden zusammengelagert. [68]

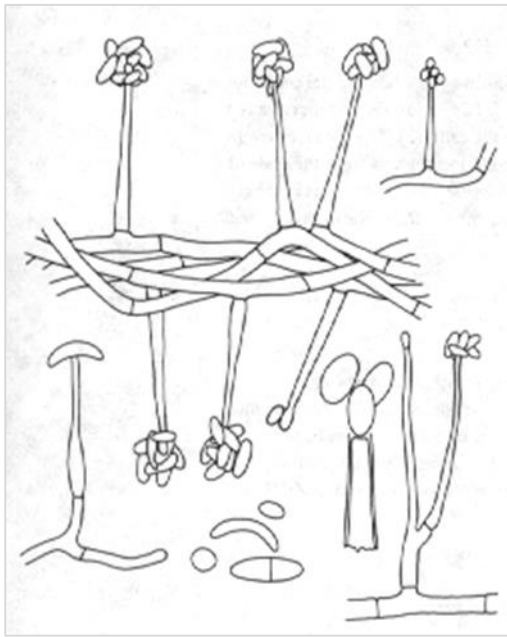


Abbildung 26: Schematische Darstellung der Gattung *Acremonium* [80]

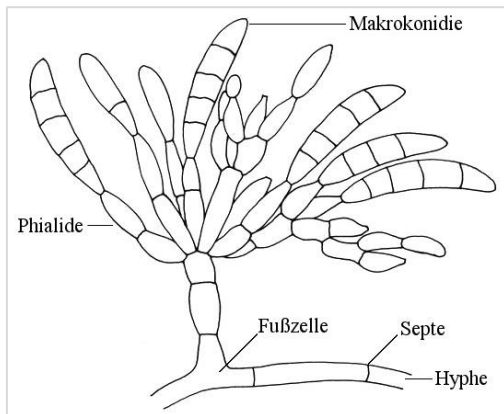


Abbildung 27: Lichtmikroskopische Aufnahme von *Acremonium murorum*; nach [79]

#### 3.4.2.5 Fusarium

Die Gattung *Fusarium* gehört den Ascomyceten an. Sie sind weit verbreitete Besiedler von Futter und Lebensmitteln, Pflanzenparasiten und Saprobionten. Fusarien sind Produzenten von Mykotoxinen. Einige Arten sind humanpathogen.

*Fusarium*-Kolonien sind in der Regel schnellwachsend. Sie sind je nach Art blass oder kräftig in den Tönen von weißlich bis gelblich, bräunlich, rosa, rötlich oder lila gefärbt. Ihr Luftmyzel kann ein sehr flaumiges Aussehen besitzen. Ihre Phialiden sind schlank. Arten der Gattung *Fusarium* produzieren sowohl Mikro- als auch Makrokonidien. Die 1- bis 2-zelligen Mikrokonidien sind hyalin und birnen-, spindel- oder eiförmig. Sie können gerade oder gebogen sein. Die zwei- bis mehrzelligen Makrokonidien sind ebenfalls hyalin. Sie sind birnen- bis sichelförmig und besitzen meist längliche Scheitelzellen und schlanke Basalzellen. [50], [72]



**Abbildung 28: Schematische Darstellung der Gattung *Fusarium*; verändert nach [81]**

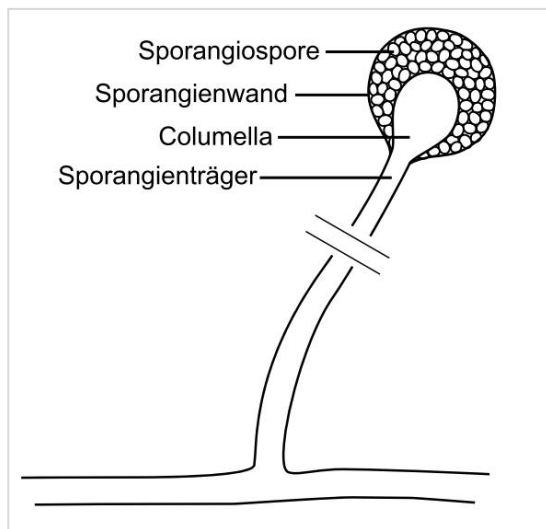


**Abbildung 29: Lichtmikroskopische Aufnahme von *Fusarium culmorum* [82]**

#### 3.4.2.6 Mucor

Die Gattung *Mucor* gehört zur Klasse der Zygomyceten. Der Gattung gehören 49 Arten an. Sie sind als Lebensmittelverderber auf Früchten, Gemüse und fermentierten Lebensmitteln weit verbreitet, gehören aber auch zu den häufigsten Bodenpilzen und können humanpathogen sein.

Die Kolonien sind durch ein sehr schnelles Wachstum (ca. 2-3 cm pro Tag, bei 20°C) gekennzeichnet. Sie wachsen flaumig bis flauschig. Anfangs sind die Kolonien weiß bis gelblich und werden mit der Entwicklung der Sporen zunehmend dunkelgrau bis schwarz. Die Sporangioophoren ragen von dem unseptierten Myzel auf und bilden an der Spitze eine sogenannte Kolumella, eine Verdickung der Hyphe. Sie können einfach oder verzweigt sein. Um die Kolumella herum befindet sich das kugelig-sphärische, vielsporige Sporangium. In der Regel sind Reste der Sporenwand an der Basis der Columella nach Ausbreitung der Sporen sichtbar. Die Sporen sind hyalin, grau oder bräunlich. Sie sind kugelig bis ellipsoid und glattwandig oder schwach ornamentiert. Bei einigen Arten können ebenfalls Zygosporien vorhanden sein. [50], [75]



**Abbildung 30: Schematische Darstellung der Gattung Mucor [33]**



**Abbildung 31: Lichtmikroskopische Aufnahme von *Mucor* sp. [75]**

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Experiment 1

Im Zeitraum vom 15.04.2015 bis zum 30.04.2015 wurde auf dem Dach des Hauses 8 der Hochschule Mittweida auf einer Plastikfolie Schweinefleisch (Eisbein) ausgelegt. Zum Schutz vor Insekten sollte ein abgedunkelter Deckel dienen, in dessen Oberseite einige Luftschlitze für Luftzufuhr vorhanden waren (siehe Abbildung 17).

In regelmäßigen Abständen erfolgte die Kontrolle des Experiments. Dabei wurde stets die Temperatur unter der Abdeckung gemessen. Zusätzlich wurden Daten der Minimal- und Maximaltemperaturen sowie der Niederschlagsmenge an diesen Tagen vom Deutschen Wetterdienst genutzt. Die eben genannten Umgebungsbedingungen sind in Tabelle 14 zusammengefasst.

**Tabelle 14: Äußere Bedingungen während des ersten Versuchs**

Temperatur 1 gibt die Temperatur an, die zum Zeitpunkt der Kontrollen gemessen wurden;  
Temperatur 2 gibt die Maximal- und Minimalwerte an, die vom Deutschen Wetterdienst aufgezeichnet wurden; Niederschlagsmenge ebenfalls vom Deutschen Wetterdienst

Tag	Temperatur 1	Temperatur 2	Niederschlagsmenge
1	26 °C	8,7 – 22,0 °C	0,0 l/m <sup>2</sup>
2	19 °C	6,9 – 14,8 °C	0,0 l/m <sup>2</sup>
6	25 °C	2,4 – 15,4 °C	0,0 l/m <sup>2</sup>
8	16 °C	2,4 – 7,4 °C	0,1 l/m <sup>2</sup>
9	31 °C	1,4 – 15,5 °C	0,0 l/m <sup>2</sup>
12	21 °C	10,4 – 20,2 °C	0,1 l/m <sup>2</sup>
13	32 °C	5,8 – 21,3 °C	25,6 l/m <sup>2</sup>
16	27 °C	6,6 – 15,4 °C	9,1 l/m <sup>2</sup>

Zusätzlich zu den Messungen der Temperatur wurden Fotos aufgenommen und die Beobachtungen notiert. Sie sind in der folgenden Übersicht zusammengefasst.



## Beobachtungen:

---

### Tag 1 / Start des Experiments

---



Abbildung 32: Versuch 1, Versuchsstart

- Fleisch rosa
- Knochen hell und fest mit dem Fleisch verbunden, Knochenmark hellrot
- Haut hell und glatt
- Fettschicht weiß
- feuchte Oberfläche, nicht schmierig
- kein Geruch

---

### Tag 2

---



Abbildung 33: Versuch 1, Tag 3

- dunklere Färbung des Fleisches und der Haut
- Knochen tritt leicht hervor, Fleisch löst sich, Muskelbündel leicht verschoben
- Haut faltig
- Oberfläche trockener

---

### Tag 6

---



Abbildung 34: Versuch 1, Tag 6

- Fleisch dunkelbraun
- ausgetrocknete Fleisch-Oberfläche mit Rissen
- Haut faltig und mit eingefallenen Stellen

---

Tag 8

---



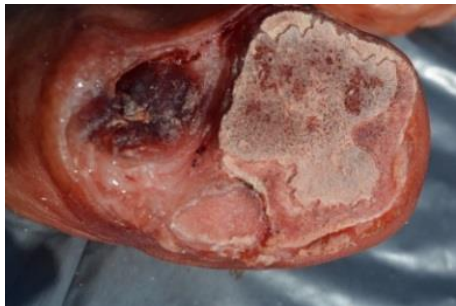
**Abbildung 35: Versuch 1, Tag 8**

- Fleischoberfläche dunkel, an den trockenen Stellen etwas heller, rissig/ in sich verschoben
- Knochen mit weißer Schicht überzogen
- kristalline Ablagerungen auf der Oberfläche

---

Tag 9

---



**Abbildung 36: Versuch 1, Tag 9**

- kaum Veränderungen zu Tag 8
- Fettschicht nicht mehr durchgängig fest und weiß

---

Tag 12

---



**Abbildung 37: Versuch 1, Tag 12**

---

- Haut mit dunklen Verfärbungen
- kleine Bläschen auf der Haut
- Verlust von Körpervolumen durch Austrocknung



---

Tag 13

---



**Abbildung 38: Versuch 1, Tag 13**

- Haut mit kleinen weißen Flecken bedeckt
- größere kristalline Ablagerungen

---

Tag 16 (danach Abbruch des Experiments)

---



**Abbildung 39: Versuch 1, Tag 16**

- kaum weitere äußere Veränderung
- Flüssigkeitsspuren unter dem Fleisch  
→ Befall durch Insektenlarven

---

Tag 22 (nach Abbruch des Experiments)

---



**Abbildung 40: Versuch 1 nach Abbruch des Experiments (Tag 22)**

- Aushöhlung der Fleischstücke von unten
- starker Flüssigkeitsaustritt unter dem Fleisch
- Insektenbefall (Käfer und Fliegen)  
→ Gelege erkennbar

---

Im Laufe dieses ersten Experiments zeigten sich zwar Veränderungen wie Verfärbungen an den Fleischstücken, die zu erwartenden Fäulniserscheinungen blieben jedoch größtenteils aus. Das Fleisch war durchgängig warmen Temperaturen ausgesetzt (siehe Tabelle 14). Die teilweise sehr hohen Temperaturunterschiede zwischen den real

gemessenen und den vom Wetterdienst aufgezeichneten Werten können auf die intensive Sonneneinstrahlung zurückgeführt werden. Durch die erhöhte Lage befand sich der Versuchsaufbau von Sonnenauf- bis Sonnenuntergang im direkten Sonnenlicht. Das führte zu einer raschen Austrocknung, gut in Abbildung 34 zu erkennen. Darauf ist zu erkennen, dass das Muskelfleisch trocken und rissig ist. Dadurch kam der Fäulnisprozess zum Erliegen (siehe Abschnitt 1.2.2.1).

## 4.2 Experiment 2

Im Zeitraum vom 28.04.2015 bis zum 14.05.2015 wurde im Kellergewölbe eines Wohnhauses, welches gleichmäßig belüftet wurde, wurde auf einer Plastikplane ein Stück eines Schweineunterschenkels (Eisbein) ausgelegt. Über das Fleisch wurde ein Deckel gestülpt, der mit einem feinmaschigen Netz überzogen war und somit die Luftzirkulation zulassen, aber gleichzeitig Insektenbefall verhindern sollte (siehe Abbildung 18). Neben dem Versuchsaufbau wurde ein Hygrometer mit integriertem Thermometer aufgestellt. Die erfassten Daten sind in Tabelle 15 zusammengefasst.

**Tabelle 15: Äußere Bedingungen während des zweiten Versuchs**

Tag	Temperatur	Luftfeuchtigkeit
1	15 °C	80 %
3	12 °C	80 %
5	11 °C	76 %
7	14 °C	88 %
9	15 °C	86 %
11	14 °C	84 %
14	14 °C	80 %
17	14 °C	76 %

Neben der Überwachung von Temperatur und Luftfeuchtigkeit erfolgte während der regelmäßigen Kontrollen die Aufnahme von Fotos. Die Beobachtungen wurden dabei notiert und sind zusammen mit den Fotografien in der folgenden Übersicht zusammengefasst.

## Beobachtungen:

---

Tag 1/ Beginn des Versuchs

---



Abbildung 41: Versuch 2, Versuchsstart

- frisches, rosafarbenes Fleisch
- Knochen hell, Knochenmark hellrot
- keine schmierige Schicht
- Außenhaut hell und glatt
- Fettschicht weiß
- kein Geruch

---

Tag 3

---



Abbildung 42: Versuch 2, Tag 3

- Fleisch dunkler
- Oberfläche leicht schmierig
- Außenhaut leicht mit dunklen Flecken überzogen
- in unmittelbarer Nähe des Fleisches leichter Fäulnisgeruch

---

Tag 5

---



**Abbildung 43: Versuch 2, Tag 5**

- Verfärbungen auf der Haut an einigen Stellen stärker ausgeprägt
- kleine Bläschen auf der Haut und auf dem Fleisch
- Flüssigkeit auf dem Fleisch
- Fleischteile leicht verschoben
- stärkerer Fäulnisgeruch

---

Tag 7

---



**Abbildung 44: Versuch 2, Tag 7**

- Fleisch verfärbt (dunkelrot, grau, grün)
- große dunkelgraue Flecken auf der Haut
- erste weiße Flecken auf der Haut
- Bläschen auf Haut und Fleisch
- schmierige Oberfläche mit Flüssigkeits-Ansammlungen
- Knochen und Knochenmark dunkler
- starker Fäulnisgeruch
- Anwesenheit von einzelnen Insekten

---

Tag 9

---



**Abbildung 45: Versuch 2, Tag 9**

- viele Blasen auf dem Fleisch
  - Schleimschicht vorhanden
  - ausgetretene Flüssigkeit auf dem Boden
  - größere weiße und dunkelgraue Flecken auf der Haut
  - starker Geruch (auch aus der Entfernung wahrnehmbar)
  - Anwesenheit von kleinen Insekten
-

---

Tag 11

---



**Abbildung 46: Versuch 2, Tag 11**

---

- Fleisch zersetzt sich / Konsistenz verändert
- Haut voller weißer Flecken
- starker Geruch
- Muskelbündel zunehmend verschoben

---

Tag 14

---



**Abbildung 47: Versuch 2, Tag 14**

---

- weiße Flecken weiter gewachsen, treten plastisch hervor
- Flüssigkeitsfilm auf dem Fleisch
- dunkle Flecken auf der Haut jetzt auch mit weißen Flecken bedeckt

---

Tag 17

---



**Abbildung 48: Versuch 2, Tag 17**

---

- Haut stark verfärbt
- kleine Kristalle auf der Haut
- Fleisch zum ersten Mal gedreht: an Unterseite Insektenlarven / Fleisch zerfressen

In diesem zweiten Versuch konnten im Gegensatz zum ersten Versuch deutlich Fäulniserscheinungen beobachtet werden. Neben den in Versuch 1 beobachteten Verfärbungen von Haut und Fleisch traten hier noch weitere Erscheinungen wie die Ablösung der Haut vom Fleisch und Fäulnisblasen auf. Der Fäulnisgeruch war deutlich intensiver ausgeprägt. Das Fleisch und die Haut wirkten zu keiner Zeit trocken. Die äußeren Temperatur- und Luftfeuchtigkeitsbedingungen (siehe Tabelle 15) haben eine Austrocknung verhindert.

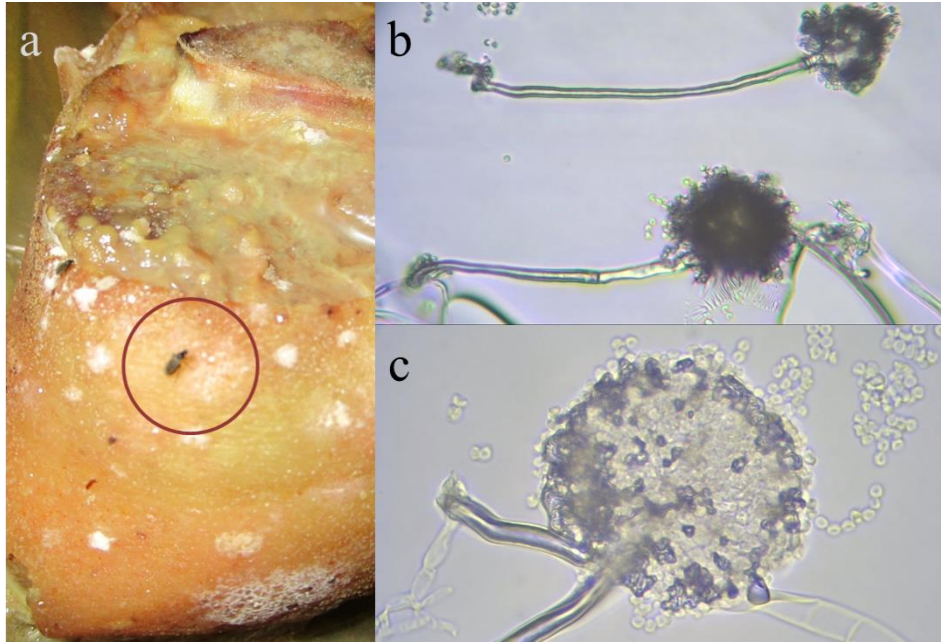
In diesem Versuch konnte deutlich das Wachstum von Schimmelpilzen festgestellt werden. An verschiedenen Stellen der Fleischstücke wurden meist weiße Kolonien ausgebildet.

Die Schimmelpilze sind nur in dem Versuch gewachsen, in dem ausreichend frei verfügbares Wasser vorhanden war. Im ersten Versuch waren zwar die Temperaturen im optimalen Wachstumsbereich, jedoch verhinderte die Trockenheit das Wachstum. Damit konnten in diesen Versuchen die Ergebnisse von Sautour et al. (dass der Einfluss der Wasseraktivität höher ist, als der der Temperatur) [53] bestätigt werden.

### **4.3 Mikroskopie**

Bei Versuch 1 wurde wegen des Fehlens von Schimmelpilzkolonien auf eine Probenahme verzichtet. Von Versuch 2 wurden mehrere native Abdruckpräparate von verschiedenen Stellen der Fleischstücke hergestellt.



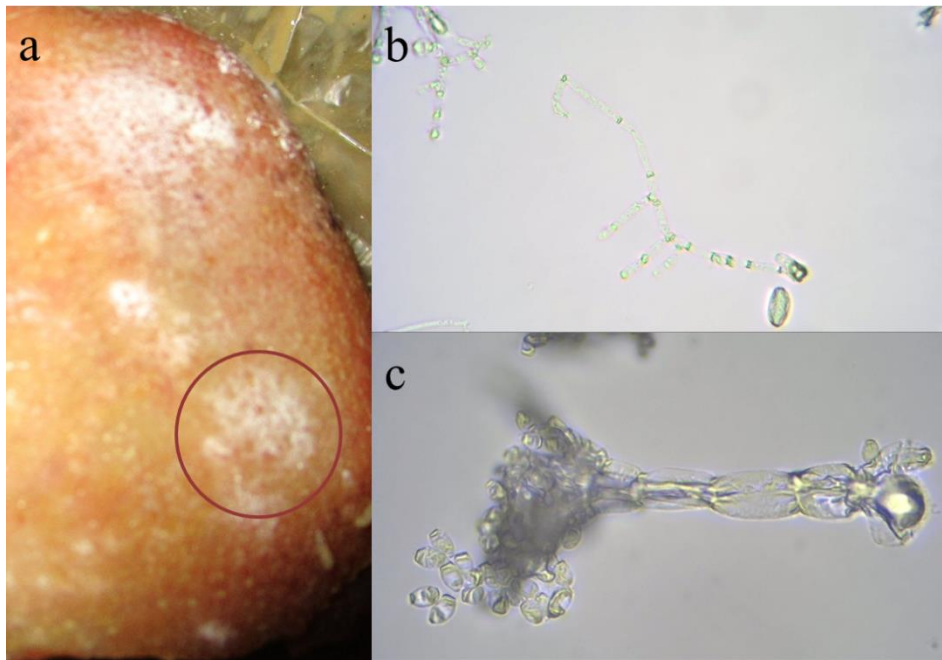


**Abbildung 49: Erste Probenahme von Versuch 2 (an Tag 17 des Versuchs)**

**a:** makroskopische Aufnahme der Kolonie (markiert durch roten Kreis); **b:** lichtmikroskopische Aufnahme zweier Konidiophoren und einer septierten Hyphe des nativen Abdruckpräparats bei 500-facher Vergrößerung; **c:** lichtmikroskopische Aufnahme eines Konidiophoren des nativen Präparats bei 1000-facher Vergrößerung (mit Immersionsöl)

Die Kolonie des Schimmelpilzes von der ersten Probe ist weiß (siehe Abbildung 49 a). Die Hyphen sind hyalin und septiert. Ein Vesikel ist im Ansatz des oberen Konidiophoren zu erkennen (siehe Abbildung 49 b). Die Konidien sind farblos und kugelförmig. Sie sind kugelförmig um die Spitze der Hyphe angeordnet (siehe Abbildung 49 c).

Die mikroskopische Untersuchung führt zu dem Schluss, dass es sich um einen Vertreter der Gattung *Aspergillus* handelt.

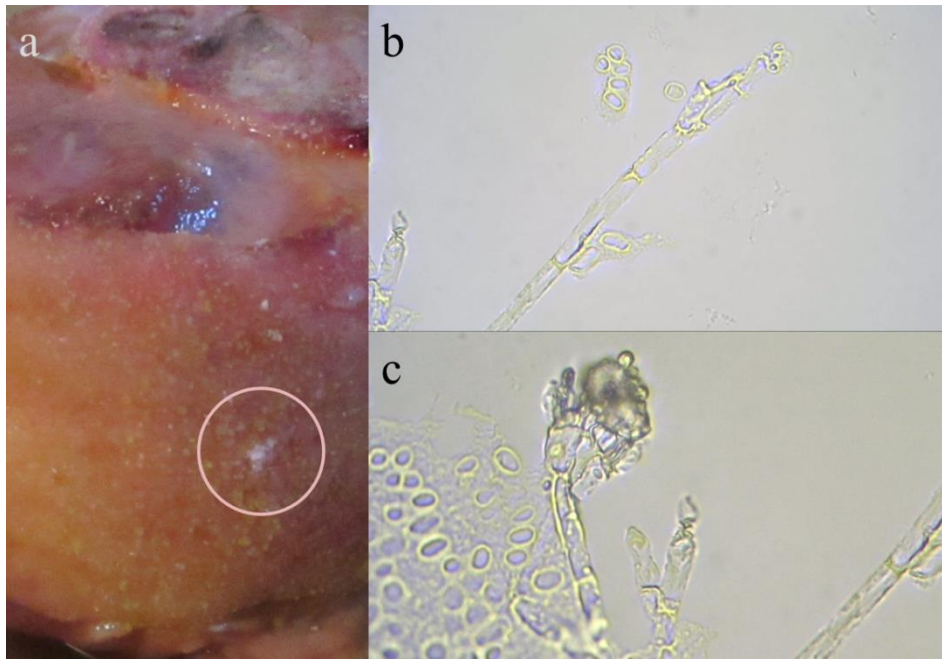


**Abbildung 50: Zweite Probenahme von Versuch 2 (an Tag 17 des Versuchs)**

**a:** makroskopische Aufnahme der Kolonie (markiert durch roten Kreis); **b:** lichtmikroskopische Aufnahme einer septierten Hyphe des nativen Abdruckpräparats bei 500-facher Vergrößerung; **c:** lichtmikroskopische Aufnahme eines Konidiophoren des nativen Präparats bei 1000-facher Vergrößerung (mit Immersionsöl)

Die zweite Probe, die von Versuch 2 genommen wurde, stammt ebenso wie bei Probe 1 von einer weißen Kolonie (siehe Abbildung 50a). Die hyalinen Hyphen sind septiert. (siehe Abbildung 50 b). Die Konidien sind nicht pigmentiert und elliptisch. Sie befinden sich in Ketten an den Enden länglicher Zellen. Der Konidiophore besitzt ein pinselähnliches Aussehen (siehe Abbildung 50 c). Das lässt den Schluss zu, dass es sich bei diesem Pilz um einen Vertreter der Gattung *Penicillium* handelt.





**Abbildung 51: Dritte Probenahme von Versuch 2 (an Tag 17 des Versuchs)**

**a:** makroskopische Aufnahme der Kolonie (markiert durch hellen Kreis); **b:** lichtmikroskopische Aufnahme einer septierten Hyphe des nativen Abdruckpräparats bei 1000-facher Vergrößerung (mit Immersionsöl); **c:** lichtmikroskopische Aufnahme eines Konidiophoren des nativen Präparats bei 1000-facher Vergrößerung (mit Immersionsöl)

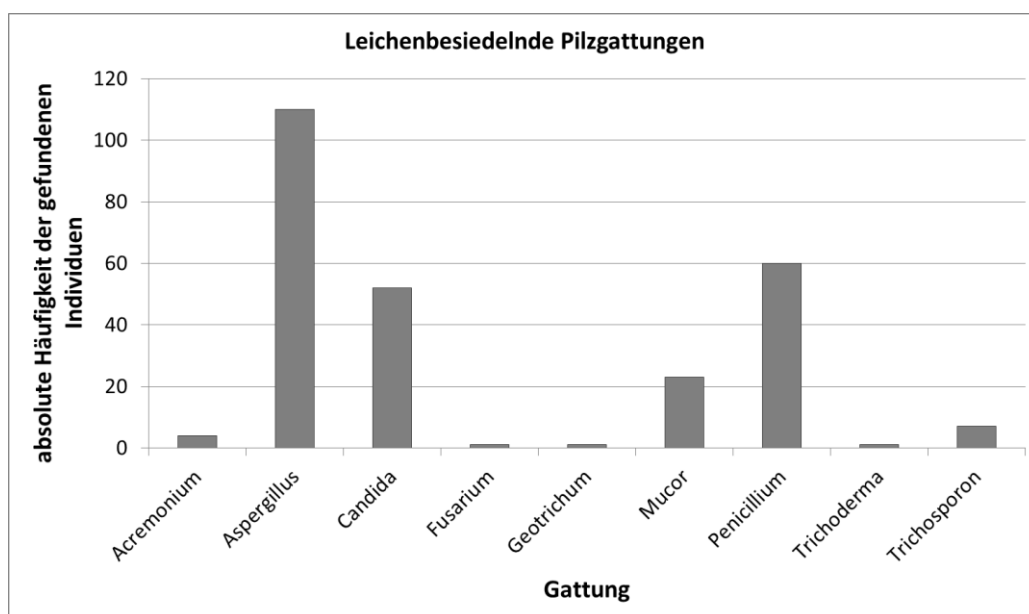
Ebenso wie bei den Proben 1 und 2 war die Kolonie, von der die dritte Probe genommen wurde, weiß (siehe Abbildung 51 a). Die Hyphen sind hyalin und septiert. (siehe Abbildung 51 b). Die Konidien sind wie bei den Proben zuvor nicht farblos. Sie sind kugelig bis elliptisch. Sie befinden sich in Ketten an den Enden länglicher Zellen. Der Konidiophore besitzt ein pinselähnliches Aussehen (siehe Abbildung 51 c). Das lässt den Schluss zu, dass es sich bei diesem Pilz um einen Vertreter der Gattung *Penicillium* handelt.

Von den drei entnommenen Proben des in einem Keller durchgeführten Versuchs stellten sich zwei als Vertreter der Gattung *Penicillium* und eine als Vertreter der Gattung *Aspergillus* heraus.

Diese beiden Gattungen zählen zu den am häufigsten vorkommenden Schimmelpilzen. Schon bei der Studie von Sidrim et al. waren die Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium* die häufigsten gefundenen Pilzgattungen. [57]

Dass die Gattung *Penicillium* im Vergleich zu *Aspergillus* vermehrt anzutreffen ist, kann mit ihren Temperatursprüchen begründet werden. Beide Pilzgattungen besitzen einen weiten Toleranzbereich. *Penicillium* bevorzugt jedoch einen niedrigeren Bereich als *Aspergillus* (siehe Abschnitt 1.1.2.1, Tabelle 2). Die durchgängig niedrigen Temperaturen zwischen 11 und 15°C haben somit das Wachstum von der Gattung *Penicillium* begünstigt. Da jedoch auch *Aspergillus* bei diesen Temperaturen ein Wachstum aufweist, war eine Anwesenheit nicht überraschend.

Im Allgemeinen war eine Besiedlung des Fleisches durch die Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus* zu erwarten. Bei den Untersuchungen an verschiedenen Leichnamen in unterschiedlichen Zersetzungsstadien durch Sidrim et al. wurden diese Gattungen am häufigsten vorgefunden (siehe Abbildung 52). Sie stellten zusammen über 65% aller gefundenen Pilzarten.[57]



**Abbildung 52: Übersicht der durch Sidrim et al.[57] gefundenen Pilzgattungen**

Zu sehen ist eine Zusammenfassung aller Funde (von Haar, Haut, Schleimhaut, Lungen, Knochen, Kleidung, Boden, Sarg)

*Penicillium* wurde auch bei den Untersuchungen von Tranchida et al. entdeckt.[63] Dabei wurde die Erde unter einer Leiche mit verschiedenen Methoden untersucht und die darin enthaltenen Pilze wurden isoliert.

## 5 Ausblick

In den durchgeführten Experimenten zeigte sich, dass sich unter bestimmten Bedingungen Schimmelpilze auf Schweinefleisch, welches als Ersatz für Menschenfleisch zur Anwendung kam, ansiedeln. Diese Erkenntnisse lassen sich durch weitere Untersuchungen ergänzen. Durch Freilandversuche unter kontrollierten Bedingungen (z.B. Luftfeuchtigkeit und Temperatur) könnten die genauen Begebenheiten geklärt werden, die für ein Pilzwachstum gegeben sein müssen.

Weiterer Forschungsbedarf ergibt sich aus dem Vergleich mit der Entomologie. In der Entomologie sind die Abläufe der Besiedlung bereits gut erforscht. Es ist bekannt, wann welche Insektenart auf einem Leichnam vorzufinden ist und wie lange die jeweilige Entwicklung jeder Art dauert. So können präzise Angaben zur Leichenliegezeit und damit auch zum Todeszeitpunkt getroffen werden. In der Mykologie dagegen sind momentan nur oberflächlich einige leichenbesiedelnde Arten bekannt. Über die genauen zeitlichen Abläufe der Besiedlung (wann welcher Pilz einen Leichnam besiedelt) und der Entwicklung (welcher Pilz nach welchem Zeitraum mit der Sporulation beginnt) gibt es bisher kaum Forschungsergebnisse. An diesem Punkt können weiterführende Forschungen angeschlossen werden. In Langzeitexperimenten lassen sich Informationen über die Artensukzession sammeln. Unter klar definierten Laborbedingungen können Schimmelpilzarten auf Nährböden kultiviert werden. Sämtliche Versuche sind dabei wegen der potentiellen Toxizität unter der Sterilwerkbank auszuführen. Diese kultivierten Pilze können dann Aussagen über die Entwicklung liefern. Damit lässt sich anhand der Größe der Kolonie herausfinden, wie schnell der Pilz wächst und wann eine Sporulation einsetzt. Die daraus gewonnenen Daten könnten in einem weiteren Schritt mit der Bestimmung des postmortalen Intervalls zusammengeführt werden.

Für eine solche routinierte Anwendung zur Leichenliegezeitbestimmung ist es zwingend notwendig, die Arten und nicht nur die Gattungen zu kennen. Die Mikroskopie ist eine einfache, schnelle und kostengünstige Möglichkeit zur Bestimmung von Schimmelpilzen. Da allerdings gerade bei den Gattungen *Aspergillus*, *Penicillium* und *Fusarium* eine mikroskopische Differenzierung schwierig ist, muss eine zusätzliche und zuverlässige Bestimmungsmethode, z.B. eine molekularbiologische Analyse, etabliert werden.

Mittels DNA-Analyse-Techniken wie Sequenzierung und RFLP (Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus) können Arten anhand genetischer Marker identifiziert werden.

Diese Methoden sind so genau, dass sogar einzelne Stämme der jeweiligen Art bestimmt werden können.

Als vielversprechend erwiesen hat sich auch die Analyse der Sekundärmetabolite und Mykotoxine. Dabei werden die Metabolitenprofile mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) und Dünnschichtchromatographie (TLC) erstellt und anschließend miteinander verglichen.

Zusätzlich existieren immunologische Methoden. Dazu werden Myzelfragmente oder Sporen auf Mikrotiterplatten mit verschiedenen Kohlenstoffquellen gegeben. Anhand der jeweiligen Farbveränderungen und Trübungen, die nach der Inkubation auftreten, können Rückschlüsse auf die Art gezogen werden.

In weiteren Forschungen können zudem noch Informationen zur Pilzentwicklung auf vergrabenen Leichen (Tiermodelle als Menschenersatz) gesammelt werden. Durch diese Untersuchungen können neben Erkenntnissen über Schimmelpilze noch zusätzlich Informationen über das Wachstum von Ammonium-Pilzen gewonnen werden.

## 6 Zusammenfassung

Pilze sind in vielen Bereichen des Lebens von großer Bedeutung - ob als Nahrungsmittel oder zur Lebensmittelherstellung, als Produzenten von Vitaminen, Enzymen oder Antibiotika bzw. als Destruenten von Naturstoffen (pflanzlich und tierisch).

Der Wissenschaftszweig der Mykologie existiert bereits sehr lang, dennoch gibt es zur forensischen Mykologie bisher nur wenige Forschungsergebnisse. In den vergangenen Jahren hat sie aber zunehmend an Bedeutung gewonnen. In der forensischen Mykologie sind besonders die Schimmelpilze von Bedeutung, da diese nicht nur in der Erde um einen Leichnam herum, sondern auch direkt auf der Leiche wachsen können.

Für die vorliegende Arbeit wurde in zwei praktischen Versuchen die Besiedlung von Kadavern durch Schimmelpilze untersucht. Dabei kamen Tiermodelle zum Einsatz. Als Ersatz für menschliches Gewebe diente Schweinefleisch. Die Fleischstücken wurden an zwei verschiedenen Orten (auf einem Dach und in einem Keller) ausgelegt, an denen unterschiedliche Witterungsbedingungen (vor allem Temperatur und Luftfeuchtigkeit) vorherrschten. Dabei zeigte sich, dass das frei verfügbare Wasser bedeutsamer für das Wachstum der Pilze ist als die Temperatur. Nur bei dem Versuch in dem feuchten Keller wuchsen Schimmelpilze auf dem Fleisch. Das Fleisch des anderen Versuchs trocknete aus, da neben hohen Temperaturen die Feuchtigkeit fehlte. Von den gewachsenen Schimmelpilzkolonien des Kellerversuchs wurden anschließend Proben genommen und für die Differenzierung vorbereitet.

Zur Differenzierung der Schimmelpilze wurde die Methode der Mikroskopie gewählt. Sie ist die schnellste und zugleich kostengünstigste Variante. Dazu wurde ein Bestimmungsschlüssel gefunden. Mit nativen Abdruckpräparaten erfolgte dann eine mikroskopische Beurteilung der genommenen Proben. Bei diesen Untersuchungen wurde festgestellt, dass sich Schimmelpilze der Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium* angesiedelt hatten.

Für eine präzisere Differenzierung bis zur Art ist eine Etablierung einer molekularbiologischen Analyse notwendig. Durch weitere Experimente können zukünftig Informationen über die zeitliche Entwicklung und Abfolge der Schimmelpilze gewonnen werden.

## 7 Summary

In many fields of life fungi are of great significance - whether as food or for food production, as producers of vitamins, enzymes or antibiotics or as decomposers of natural products (plants and animals).

The branch of science of mycology has been existing for a long period, but in forensic mycology there are only few research results. In recent years it gains in importance. In forensic mycology the moulds are of great significance because these kind of fungi grows directly on the corpse and not only in the soil around a corpse.

In the present study the colonization of carcasses by moulds was investigated in two practical experiments. Therefore animal models were used. Pork was used as a substitute for human tissue. The pieces of meat were placed in two different locations (on a roof and in a basement) with different climatic conditions (especially temperature and humidity). It shows up that the freely available water is more important for the growth of fungi than the temperature. The moulds grew only during the experiment at the wet basement. The meat of the other experiment has dried out, in consequence of high temperatures and the lack of moisture. For the distinction the samples were taken and prepared from the grown mould-colonies.

In order to differentiate the mould, the microscopy was elected. This is the fastest and the most cost-effective method. For this, a determination key was found. A microscopic assessment of the taken samples was made with native preparations. In these studies it shows up that fungi of the genera *Aspergillus* and *Penicillium* had colonized.

For a more accurate differentiation up to the species, the establishment of a molecular biological analysis is necessary. With further experiments information on the temporal evolution and succession of the moulds can be obtained.

## 8 Anhang

### 8.1 Beispiele monofaktorieller ökologischer Gruppen von Pilzen, die bestimmte Lebensbedingungen beanspruchen

**Tabelle 16: Einteilung der Schimmelpilze nach den Feuchtigkeitsansprüchen**

Bezeichnung	Schwerpunkt des Vorkommens in
hygrophile (hygrophytische) Pilze	Feuchtbiotopen (Moore, Quellfluren, Sumpfwiesen usw.)
mesophile (mesophytische) Pilze	frischen bis mäßig feuchten Biotopen (mesophile Wälder, mäßig feuchte Wiesen usw.)
xerophile (xerophytische) Pilze	trockenen Biotopen (Steppen, Trockenrasen, Trockenwälder, Halbwüsten, Wüsten usw.)

**Tabelle 17: Einteilung der Pilze nach ihren Temperaturansprüchen**

Bezeichnung	Schwerpunkt des Vorkommens in	Physiologische Definition des Begriffes
thermophile Pilze	warmen Regionen bzw. Biotopen, auf relativ warmen Kalkböden usw.	Wachstumsoptimum der Kulturen bei über 40 °C
mesophile Pilze	in mittleren Bereichen (warme und kühle Biotope meidend)	Wachstumsoptimum der Kulturen zwischen 20 und 40 °C
psychrophile Pilze	in kühlen Biotopen (Gebirgswälder, Dauerfrostböden usw.)	Wachstumsoptimum der Kulturen zwischen 0 und 20 °C

**Tabelle 18: Einteilung der Pilze nach ihren Ansprüchen an die Azidität**

Bezeichnung	Schwerpunkt des Vorkommens
azidophile Pilze	auf sauren Substraten; Wachstumsoptimum bei einem pH-Wert < 6,5
aziditätsvage (bodenvage) Pilze	vom pH-Wert des Substrates unabhängig; sowohl auf sauren als auch auf alkalischen Substraten
basiphile Pilze	auf basischen Substraten; Wachstumsoptimum bei einem pH-Wert > 7

## 8.2 Wichtige Gruppen der Pilze

Tabelle 19: Übersicht über einige wichtige Gruppen der Pilze (Fungi oder Mycota) [54]

Echte Schleimpilze = <b>Myxomycetes</b>	Niedere Pilze = <b>Phycomycetes</b>	Höhere Pilze = <b>Eumycetes</b>	
Fuligo septica Lycogala epidendron Cribraria rufa Physarum	Chytridiomyceten Chytridiales Blastocladales Monoblepharidales	Schlauchpilze = <b>Ascomycetes</b>	Ständerpilze = <b>Basidiomycetes</b>
Zellige Schleimpilze = <b>Acrasiumycetes</b>	Oomyceten Saprolegniales Leptomitales Peronosporales	Protoascomyceten Endomycetaceae Saccharomycetaceae  Eusascomyceten Plectomyceten (= Kleistothezienpilze) Aspergillus Penicillium  Pyrenomyceten (= Perithezienpilze) Sordaria Neurospora Xylaria Nectria, Claviceps  Discomyceten (= Apothezienpilze) Rhytisma, Peziza, Helvella, Morchella Tuber	Fungi imperfecti = <b>Deuteromycetes</b>  Heterobasidiomyceten Tremellales Uredinales Ustilaginales  Homobasidiomyceten Hymenomyceten Polyporaceae Agaricaceae Boletaceae Hydnaceae Clavariaceae Corticaceae  Gasteromyceten Lycoperdales Phallales Nidulariales
Dictyostelium	Plasmodiophoromyceten  Zygomyceten Mucorales Entomophthorales		



### **8.3 Zusammensetzung und Herstellung der Nährmedien**

#### **8.3.1 Malz-Agar 2,5 % (MEA)**

zur Stammhaltung filamentöser und heterobasidialer Hefen [30]

25 g        Malzextrakt (getrocknet und pulverisiert) oder 30 g Biomalz

20 g        Agar-Agar

1000 ml    Aqua dest.

1. Agar-Agar abwiegen und 5 min in fließendem Wasser waschen; danach Wasser weggießen.
2. 1000 ml Aqua dest. zugeben und im Becherglas im Wasserbad erhitzen, bis sich das Agar-Agar auflöst.
3. Malzextrakt (bzw. Biomalz) abwiegen und der Lösung zufügen.
4. pH-Wert prüfen und gegebenenfalls einige Tropfen HCl zugeben, bis sich ein pH-Wert etwa 5,5 einstellt. Der pH-Wert kann mit Indikatorpapier gemessen werden.
5. Lösung durch weichen Papierfilter filtrieren und das Filtrat in einem Erlenmeyerkolben im Kühlschrank aufbewahren.
6. In Röhrchen füllen nach Vorschrift A 70.
7. 15 min bei 121 °C im Autoklaven sterilisieren nach Vorschrift B 3 oder B 4.
8. Vor dem Festwerden des Agars sind die Röhrchen nach Vorschrift A 71 schräg zu legen.

#### Anmerkungen:

Für schwachwüchsige Pilze sind 50 g Biomalz auf 1 l Wasser zu empfehlen.

Die Verwendung von Biomalz ist weniger günstig, da ihm z.T. CaCO<sub>3</sub> oder andere Substanzen beigemischt sind, welche das Wachstum mancher Pilze ungünstig beeinflussen.

Zur Bestimmung und Stammhaltung von *Penicillium* wird der Nährboden mit 20 g pulverisiertem Malzextrakt, 20 g Glucose und 1 g Pepton angesetzt (PITT 1979).

### 8.3.2 Maismehl-Agar (CMA)

für Dauerkulturen und Sporulation vieler imperfekter Pilze [30]

30 g	Maismehl
20 g	Agar-Agar
1000 ml	Wasser

1. 1000 ml Wasser mit 30 g Maismehl im Becherglas bis zum Sieden erhitzen. Vorher Standhöhe des Becherglases mit Fettstift markieren.
2. Eine Stunde kochen lassen, dabei hin und wieder umrühren.
3. Währenddessen Agar-Agar abwiegen und 5 min in fließendem Wasser waschen; danach Wasser abgießen.
4. Den Maismehlbrei durch ein Tuch filtrieren.
5. Das Agar-Agar dem heißen Filtrat zufügen.
6. Im Wasserbad erwärmen (evtl. im Dampftopf), bis sich das Agar-Agar löst.
7. Das verdampfte Wasser bis zur Markierung (s. oben) auffüllen.
8. pH-Wert prüfen und nötigenfalls einige Tropfen HCl zufügen, bis sich ein pH zwischen 5,0 und 6,0 einstellt. Der pH-Wert kann mit Indikatorpapier gemessen werden.
9. Die heiße Lösung durch Papierfilter filtrieren; das Filtrat im Erlenmeyerkolben im Kühlschrank aufbewahren.
10. Nach Vorschrift A70 in Röhrchen füllen.
11. Nach Vorschrift B 4 20 min im Autoklaven sterilisieren.
12. Vor dem Abkühlen Röhrchen nach Vorschrift A 71 schräg legen bzw. nach Vorschrift A 72 in Petrischalen gießen.

### 8.3.3 Czapek-Dox-Agar (CzA)

Chemisch definierter („synthetischer“) Nährboden für die Bestimmung von Kulturen von *Aspergillus*, *Penicillium* u.a.

3 g	NaNO <sub>3</sub>
1 g	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
0,5 g	KCl
0,5 g	MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O
0,01 g	FeSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O
30 g	Saccharose (oder 30 g D-Glucose), frei von SO <sub>2</sub>
20 g	Agar-Agar
1000 ml	Aqua dest.

1. Agar-Agar abwiegen und 5 min unter fließendem Wasser waschen, danach das Wasser weggießen.
2. 1000 ml Aqua dest. zugeben und im Wasserbad erhitzen, bis das Agar-Agar sich löst.
3. Die übrigen Substanzen (s. oben) hinzufügen und gut umrühren.
4. Die Lösung durch Papierfilter filtrieren.
5. Nach Vorschrift A 70 in Röhrchen füllen.
6. Nach Vorschrift B 3 / 4 15 min im Autoklaven sterilisieren.
7. Nach Vorschrift A 72 in vorbereitete sterile Petrischalen gießen.

#### Anmerkung:

Zur Bestimmung osmophiler *Aspergillus*-Arten wird ein Czapek-Dox-Agar mit 200 g Saccharose auf 1000ml Aqua dest. verwendet. (*Aspergillus-glaucus*-Gruppe).

Zur Bestimmung und Stammhaltung von *Penicillium* wird dem Nährboden 5g Hefeautolysat oder Hefeextrakt zugesetzt (Czapek-Hefeautolysat-Agar, CYA, PITT 1979)

## **8.4 CD**

Auf der beigefügten CD sind folgende Inhalte enthalten:

- Masterarbeit
- Abbildungen der Pilz-, Pflanzen- und Tierzellen mit kompletter Beschriftung aus Abschnitt 1.1, Tabelle 1
- Fotografien der beiden Kultivierungsversuche (siehe Abschnitt 4.1 und 4.2)
- Lichtmikroskopische Aufnahmen der Abdruckpräparate (siehe Abschnitt 4.3)

## 9 Literaturverzeichnis

- [1] AMENDT, J./ KRETTEK, R./ ZEHNER, R. (2004): Forensic entomology: In: Naturwissenschaften (2004) 91
- [2] AYERST, G. (1969): The Effects of Moisture and Temperature on Growth and Spore Germination in some Fungi. In: Journal of Stored Products Research, Vol.5
- [3] CARTER, D.O./ TIBBETT, M. (2003): Taphonomic Mycota: Fungi with Forensic Potential: In: Journal of Forensic Science Vol.48, No. 1
- [4] CARTER, D.O./ YELLOWLEES, D./ TIBBET, M. (2007): Cadaver decomposition in terrestrial ecosystems. In: Naturwissenschaften (2007) 94
- [5] CARVALHO, L.M.L./ THYSSEN, P.J./ LINHARES. A.X./ PALHARES, F.A.B. (2000): A Checklist of Arthropods Associated with Pig Carrion and Human Corpses in Southeastern Brazil. In: Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Vol.95(1)
- [6] CAMPOBASSO, C.P./ DI VELLA, G./ INTRONA, F. (2001): Factors affecting decomposition and Diptera colonization. In: Forensic Science International 120
- [7] CYPIONCA, H. (2010): Grundlagen der Mikrobiologie. Vierte Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag
- [8] DEACON, J.W. (1997): Modern Mycology. Dritte Auflage. Berlin: Blackwell Wissenschafts-Verlag
- [9] DEKEIRSSCHIETER, J./ VERHEGGEN, F.J./ GOHY, M./ Hubrecht; F./ BOURGUIGNOM, L./ LOGNAY, G./ HAUBRUGE, E. (2009): Cadaveric volatile organic compounds released by decaying pig carcasses (*Sus domesticus* L.) in different biotopes: In: Forensic Science International 189
- [10] DEKEIRSSCHIETER, J./ FREDERICK, C./ VERHEGGEN, F.J./ DRUGMAND, D./ HAUBRUGE, E. (2013): Diversity of Forensic Rove Beetles (Coleoptera, Staphylinidae) Associated with Decaying Pig Carcass in a Forest Biotope. In: Journal of Forensic Sciences, Vol. 58, No. 4
- [11] DELITSCH, H. (1943): Ergebnisse der theoretischen und angewandten Mikrobiologie: Band 1. Systematik der Schimmelpilze. Neudamm: Neumann

- [12] DENT, B.B. / FORBES, S.L./ STUART, B.H. (2003): Review of human decomposition processes in soil. In *Environmental Geology* (2004) 45
- [13] DETTMAYER, R.B./ SCHÜTZ, H.F./ VERHOFF, M.A. (2014): *Rechtsmedizin*. 2., aktualisierte Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag
- [14] DÖRFELT, H. (1988): *BI-Lexikon. Mykologie. Pilzkunde*. Leipzig: Bibliographisches Institut
- [15] FRANKLAND, J.C. (1998): Fungal succession – unraveling the unpredictable. In *Mycological Research* 102 (I)
- [16] FUKIHARU, T./ YOKOYAMA, G./ OBA, T. (2000): Occurrence of *Hebeloma vinosophyllum* on the forest ground after decomposition of crow carcass. In *Mycoscience* 41
- [17] GILG, E./ SCHUMANN, K. (2008): *Das Pflanzenreich* (1900). Verlag von J. Neumann
- [18] GRASSBERGER, M./ FRANK, C. (2001): Initial Study of Arthropod Succession on Pig Carrion in a Central European Urban Habitat. In: *Journal of Forensic Entomology*, Vol.41, No. 3
- [19] GRIME, J.P. (1974): Vegetation classification by reference to strategies. In: *Nature*, Vol. 250, 1974
- [20] HAELEWATERS, D. (2013): *Hebeloma*, Pioneer Genus in Forensic Mycology. In: *FUNGI* Vol. 6
- [21] HARSANYI, L. (1993): Differential diagnosis of human and animal bone. In: *Differential Histology of Ancient Human Bone. Methods and Diagnosis*. Berlin: Springer-Verlag
- [22] HAWKSWORTH, D.L./ WILTSHIRE, P.E.J. (2010): Forensic mycology: the use of fungi in criminal investigations. In: *Forensic Science International* 206 (2011)
- [23] HERRMANN, B./ SATERNUS, K.-S. (2007): *Biologische Spurenkunde*. Band 1. *Kriminalbiologie*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag
- [24] HITOSUGI, M./ ISHII, K./ YAGUCHI, T./ CHIGUSA, Y./ KUROSU, A./ KIDO, M./ NAGAI, T./ TOKUDOME, S. (2006): Fungi can be a useful forensic tool. In: *Legal Medicine* 8 (2006) 240–242

- [25] HO, B.-T.Q./ PHAM, N.-D.H./ SHIMIZU, K./ FUKIHARU, T./ TRUONG, B.N./ SUZUKI, A. (2014): The first record of *Hebeloma vinosophyllum* (Strophariaceae) in Southeast Asia. In: Mycotaxon Vol. 128
- [26] HOF, H./ DÖRRIES, R. (2014): Medizinische Mikrobiologie. 5. vollständig überarbeitete Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag
- [27] JANAWAY, R.C./ WILSON, A.S./ CAPRIO DIAZ, G./ GUILLEN, S. (2009): Taphonomic Changes to the Buried Body in Arid Environments: An Experimental Case Study in Peru. In: RITZ; K.7 DAWSON, L./ MILLER, D. (Eds.): Criminal and Environmental Soil Forensics: London: Springer-Verlag
- [28] KEIL, W. (2014): BASICS Rechtsmedizin. 2. Auflage. München : Elsevier, Urban & Fischer
- [29] KLICH, M.A. (2007): *Aspergillus flavus*: the major producer of aflatoxin. In: Molecular Plant Pathology 8(6)
- [30] KREISEL, H./ SCHAUER, F. (1987): Methoden des mykologischen Laboratoriums. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag
- [31] KREISEL, H. (1988): Zur Bestimmung des Begriffs „Schimmelpilze“. About a definition of the term “Moulds”. In: Zentralblatt Mikrobiologie 143 (1988)
- [32] KŘEN, V./ CVAK, L. (1999): Ergot. The Genus *Claviceps*. o.O. Harwood Academic Publishers
- [33] KÜCK, U./ NOWROUSIAN, M./ HOFF, B./ ENGH, I. (2009): Schimmelpilze. Lebensweise, Nutzen, Schaden, Bekämpfung. Dritte Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag
- [34] LANGARICA-FUENTES, A./ ZAFAR, U./ HEYWORTH, A./ BROWN, T./ FOX, G./ ROBSON, G.D. (2014): Fungal succession in an in-vessel composting system characterized using 454 pyrosequencing. In: FESM Microbiology Ecology 88
- [35] LEE LIGON, B. (2004): Penicillin: Its Discovery and Early Development. In Seminars in Pediatric Infectious Diseases, Vol 15, No 1, 2004
- [36] LEMOS-CAROLINO, M./ MADEIRA-LOPES, A./ VAN UDEN, N. (1982): The temperature profile of the pathogenic yeast *Candida albicans*. In: Zeitschrift für Allgemeine Mikrobiologie

- [37] LYNNERUP, N. (2009): Medical Imaging of Mummies and Bog Bodies – A mini-Review. In: Gerontology (2010) 56
- [38] MADEA, B. (2015): Rechtsmedizin. Befunderhebung, Rekonstruktion, Begutachtung. 3. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag
- [39] MARCHENKO, M.I. (2001): Medicolegal relevance of cadaver entomofauna for the determination of the time of death. In: Forensic Science International 120
- [40] MATUSZEWSKI, S./ KONWERSKI, S./ FRĄTCZAK, K./ SZAFLOWICZ, M. (2014): Effect of body mass and clothing on decomposition of pig carcasses. In: International Journal of Legal Medicine, 128
- [41] MCKNIGHT, B.E. [Übersetzer] (1981): The washing away of wrongs: forensic medicine in thirteenth-century China (Original: Sung Tz'u, 1186-1249)
- [42] MCLAUGHLIN, D.J./ HIBBETT, D.S./ LUTZONI, F./ SPATAFORA, J.W./ VILGALYS, R. (2009): The search for the fungal tree of life. In: Trends in Microbiology Vol. 17 No. 11
- [43] MÜLLER, E./ LOEFFLER, W. (1992): Mykologie. Grundriß für Naturwissenschaftler und Mediziner. 5., durchgesehene Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag
- [44] MUNK, K. (2008): Taschenlehrbuch Biologie. Mikrobiologie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag
- [45] OEGGL, K./ KOFLER, W./ SCHMIDL, A. DICKSON, J.H./ EGARTER-VIGL, E./ GABER, O. (2006): The reconstruction of the last itinerary of “Ötzi”, the Neolithic Iceman, by pollen analyses from sequentially sampled gut extracts. In: Quaternary Science Reviews 26
- [46] OSONO, T. (2005): Colonization and succession of fungi during decomposition of *Swida controversa* leaf litter. In: Mycologia 97(3)
- [47] PATERSON, R.R.M. (2006): Fungi and fungal toxins as weapons. In: Mycological Research Volume 110, Issue 9
- [48] PETRINI, L.E./ PETRINI, O. (2008): Schimmelpilze und deren Bestimmung. 2. Überarbeitete Auflage: Stuttgart: J. Cramer in der Gebr. Borntraeger Verlagsbuchhandlung



- [49] PRÄVE, P./ FAUST, U./ SITTIG, W./ SUKATSCH, D.A. (1994): Handbuch der Biotechnologie. Vierte Auflage. München: Oldenbourg Verlag
- [50] REIß, J. (1997): Schimmelpilze. Lebensweise, Nutzen, Schaden, Bekämpfung. Zweite Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag
- [51] SAGARA, N. (1976): Presence of a buried mammalian carcass indicated by fungal fruiting bodies. In: Nature Vol. 262
- [52] SANFORD, M.R. (2015): Forensic entomology of decomposing humans and their decomposing pets. In: Forensic Science International 247
- [53] SAUTOUR, M./ SOARES MANSUR, C./ DIVIES, C/ BENSOUSSAN, M/ DANTIGNY, P. (2002): Comparison of the effects of temperature and water activity on growth rate of food spoilage moulds. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 28
- [54] SCHLEGEL, H.-G. (2014): Allgemeine Mikrobiologie. 9., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag
- [55] SCHOTSMANS, E.M.J./ DENTON, J./ DEKEIRSSCHIELTER, J./ IVANEANU, T./ LEENTJES, S./ JANAWAY, R.C./ WILSON, A.S. (2012): Effects of hydrated lime and quicklime on the decay of buried human remains using pig cadavers as human body analogues. In: Forensic Science International 217 (2012)
- [56] SCHWANTES, H.O. (1996): Biologie der Pilze. Eine Einführung in die angewandte Mykologie. Stuttgart: Eugen Ulmer GmbH & Co.
- [57] SIDRIM, J.J.C./ MOREIRA FILHO, R.E./ CORDEIRO, R.A./ ROCHA, M.F.G./ CAETANO, E.P./ MONTEIRO, A.J./ BRILHANTE, R.S.N. (2009): Fungal microbiota dynamics as a postmortem investigation tool: focus on *Aspergillus*, *Penicillium* and *Candida* species. In: Journal of Applied Microbiology 108 (2010) 1751–1756
- [58] SMITH, K.G.V. (1986): A Manual of Forensic Entomology. London: British Museum (Natural History)
- [59] STAHL, U./ DONALIES, U.E.B./ NEVOIGT, E. (2008): Food Biotechnology. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag

- [60] STAUDACHER, T./ LUIPPOLD, G. (2004): Pilze und ihre Inhaltsstoffe. In: Deutsche Apotheker Zeitung 36. Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag
- [61] STOKES, K.L./ FORBES, S.L./ TIBBET, M (2013): Human Versus Animal: Contrasting Decomposition Dynamics of Mammalian Analogues in Experimental Taphonomy. In: Journal of Forensic Sciences, Vol. 58, No. 3
- [62] TIBBET, M./ CARTER, D.O. (2003): Mushrooms and taphonomy: the fungi that mark woodland graves. In: Mycologist, Vol. 17, Part 1
- [63] TRANCHIDA, M.C./ CENTENO, N.D./ CABELLO, M.N. (2014): Soil Fungi: Their Potential use as a Forensic Tool. Journal of Forensic Sciences, Vol. 59, No. 3
- [64] URL1 (2001): Spektrum. Abgerufen am 17.07.2015 von: <http://www.spektrum.de/lexikon/biologie-kompakt/zelle/13036>
- [65] URL2 (2014): Gymnasium Kronwerk. Abgerufen am 17.07.2015 von: <https://kronwerk2014.wordpress.com/2012/08/18/unterschiede-einer-pflanzlichen-und-einer-tierischen-zelle/>
- [66] URL3 (2014): Stern. Zahl der Pilz-Vergiftungen steigt. Abgerufen am 20.07.2015 von: <http://www.stern.de/gesundheit/fruehe-pilzsuche-zahl-der-pilz-vergiftungen-steigt-3609458.html>
- [67] URL4 (2015): Medizinische Fakultät der Universität des Saarlandes. Institut für Molekulare Zellbiologie. Prof. Dr. Peter Lipp. Abgerufen am 21.07.2015 von: <http://www.uniklinikum-saarland.de/index.php?id=21910>
- [68] URL5 (2015): Mycology Online. The University of Adelaide. Abgerufen am 24.07.2015 von: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Hyphomycetes\\_%28hyaline%29/Acremonium/](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_%28hyaline%29/Acremonium/)
- [69] URL6 (2015): Mycology Online. The University of Adelaide. Abgerufen am 24.07.2015 von: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Hyphomycetes\\_%28hyaline%29/Aspergillus/](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_%28hyaline%29/Aspergillus/)
- [70] URL7 (2015): Mycology Online. The University of Adelaide. Abgerufen am 24.07.2015 von: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Yeasts/Candida/](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Yeasts/Candida/)

- [71] URL8 (2015): Mycology Online. The University of Adelaide. Abgerufen am 24.07.2015 von: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Hyphomycetes\\_%28hyaline%29/Penicillium/](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_%28hyaline%29/Penicillium/)
- [72] URL9 (2015): Mycology Online. The University of Adelaide. Abgerufen am 24.07.2015 von: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Hyphomycetes\\_%28hyaline%29/Fusarium/](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_%28hyaline%29/Fusarium/)
- [73] URL10 (2015): Umweltmykologie. Abgerufen am 25.07.2015 von: [https://umweltmykologie.de/index.php?option=com\\_content&view=category&id=9&Itemid=483](https://umweltmykologie.de/index.php?option=com_content&view=category&id=9&Itemid=483)
- [74] URL11 (2013): Universitätsklinikum Jena. Das Schöne unterm Mikroskop. Abgerufen am 25.07.2015 von: [http://www.uniklinikum-jena.de/Startseite/Aktuelles\\_Presse/Presse/PM\\_Archiv/PM\\_Archiv+2013/Das+Sch%C3%B6ne+unterm+Mikroskop-pos-7.html](http://www.uniklinikum-jena.de/Startseite/Aktuelles_Presse/Presse/PM_Archiv/PM_Archiv+2013/Das+Sch%C3%B6ne+unterm+Mikroskop-pos-7.html)
- [75] URL12 (2015): Mycology Online. The University of Adelaide. Abgerufen am 27.07.2015 von: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Zygomycetes/Mucor/](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Zygomycetes/Mucor/)
- [76] URL13 (2009): Atlas de Micología Abgerufen am 27.07.2015 von: <http://www.telmeds.org/atlas/micologia/hongos-contaminantes/aspergillus-2/>
- [77] URL14 (2015): Masaryk University. *Penicillium chrysogenum*. Abgerufen am 27.07.2015 von: <http://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps06/mikroorg/web/penchr.htm>
- [78] URL15 (2006): Sequencing of *Candida Albicans* at the Stanford Genome Technology Center. Abgerufen am: 27.07.2015 von: <http://www-sequence.stanford.edu/group/candida/>
- [79] URL16 (2015): Masaryk University. *Acremonium murorum*. Abgerufen am 27.07.2015 von: [http://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps06/mikroorg/web/images/plisne/mikro/Acremonium\\_murorum\\_CCF\\_3226\\_mikro.jpg?lang=en;so=nx](http://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps06/mikroorg/web/images/plisne/mikro/Acremonium_murorum_CCF_3226_mikro.jpg?lang=en;so=nx)
- [80] URL17 (2013): New Brunswick Museum. Moulds. *Acremonium*. Abgerufen am 27.07.2015 von: <http://website.nbm-mnb.ca/mycologywebpages/Moulds/Acremonium.html>

- [81] URL18 (2015): Masaryk University. *Fusarium culmorum*. Abgerufen am 27.07.2015 von: [http://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps06/mikroorg/web/images/plisne/perokresby/Fusarium\\_culmorum\\_nakres.jpg?lang=en;so=nx](http://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps06/mikroorg/web/images/plisne/perokresby/Fusarium_culmorum_nakres.jpg?lang=en;so=nx)
- [82] URL19 (2015): Masaryk University. *Fusarium culmorum*. Abgerufen am 27.07.2015 von: [http://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps06/mikroorg/web/images/plisne/mikro/Fusarium\\_culmorum\\_CCF\\_3229\\_mikro.jpg?lang=en;so=nx](http://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps06/mikroorg/web/images/plisne/mikro/Fusarium_culmorum_CCF_3229_mikro.jpg?lang=en;so=nx)
- [83] URL20 (2015): Department of Anthropology. Forencis Anthropology Center. Abgerufen am 28.07.2015 von: <http://fac.utk.edu/default.html>
- [84] URL21 (2015): MycoBank Database. *Hebeloma vinosophyllum*. Abgerufen am: 11.08.2015 von: <http://www.mycobank.org/BioloMICS.aspx?Table=Mycobank&Rec=183561&Fields=All>
- [85] URL22 (2015): Bionity.com. Mykologie. Abgerufen am: 16.08.2015 von: <http://www.bionity.com/de/lexikon/Mykologie.html>
- [86] URL23 (2015): MycoBank Database. *Acremonium strictum* description. Abgerufen am 18.08.2015 von: <http://www.mycobank.org/BioloMICS.aspx?Link=T&TableKey=14682616000000063&Rec=13831&Fields=All>
- [87] URL24 (2014): Hokkaido University. Mycology. Abgerufen am 18.08.2015 von: <http://hosho.ees.hokudai.ac.jp/~tsuyu/top/dct/mycology.html>
- [88] VAN DE VOORDE, H./ VAN DIJCK, P.J. (1982): Determination of the Time of Death by Fungal Growth. In: Zeitschrift für Rechtsmedizin (1982) 89
- [89] WEBER, H. (1993): Allgemeine Mykologie. Jena, Stuttgart: Gustav Fischer Verlag
- [90] WIEBE, M.G. (2004): Quorn<sup>TM</sup> Myco-protein – Overview of a successful fungal product. In: Mycologist, Volume 18, Part 1
- [91] WILTSHIRE, P.E.J./ HAWKSWORTH, D.L./ WEBB, J.A./ EDWARDS, K.J. (2014): Palynology and mycology provide separate classes of probative evidence from the same forensic samples: A rape case from southern England. In Forensic Science International 244
- [92] WOESE, C.R./ KANDLER, O./ WHEELIS, M.L. (1990): Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. In: Proceedings of the National Academy of Sciences, Vol. 87

- [93] WOESE, C.R. (1994): There must be a prokaryote somewhere - microbiology's search for itself. In: Microbiological reviews 58 (1994), 1-9
- [94] YALAZ, M./ HILMIOGLU, S./ METIN, D./ AKISU, M./ NART, D./ CETIN, H./ OZTURK, C./ ISIK, E./ KULTURSAY, N. (2003): Fatal disseminated Acremonium strictum infection in a preterm newborn: a very rare cause of neonatal septicaemia. In: Journal of Medical Microbiology, 52

## **Selbstständigkeitserklärung**

Hiermit erkläre ich,

Anett Marciniak, Matrikel-Nr. 34653

dass ich die vorliegende Arbeit mit dem Thema:

„Forensische Mykologie – Leichenbesiedlung durch Pilze“

selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus fremden Quellen übernommenen Zitate sind als solche kenntlich gemacht.

Die Arbeit wurde bisher in gleicher oder ähnlicher Form keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und auch nicht veröffentlicht.

Mittweida, 24.08.2015

Ort, Datum



Unterschrift